



**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA ECOTEC  
FACULTAD DE INGENIERIAS, ARQUITECTURA Y CIENCIAS DE LA  
NATURALEZA**

**CARRERA DE AGRONOMÍA**

**TRABAJO INVESTIGACIÓN**

**CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y ANTIFÚNGICA DE  
EXTRACTOS EN HOJAS DE *Ruellia floribunda* CONTRA  
*Pseudocercospora fijiensis*, AGENTE CAUSAL DE LA  
SIGATOKA NEGRA**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN  
GESTIÓN DE LOS PROCESOS PRODUCTIVOS AGRÍCOLAS**

**AUTOR  
FERRER SORROZA CARLOS ALBERTO**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**2024**



**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA ECOTEC  
FACULTAD DE INGENIERIAS, ARQUITECTURA Y CIENCIAS  
DE LA NATURALEZA**

**CARRERA DE AGRONOMÍA**

**CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y ANTIFÚNGICA DE  
EXTRACTOS EN HOJAS DE *Ruellia floribunda* CONTRA  
*Pseudocercospora fijiensis*, AGENTE CAUSAL DE LA  
SIGATOKA NEGRA**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del  
título de

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**AUTOR**

**FERRER SORROZA CARLOS ALBERTO**

**TUTOR**

**DR. CÉSAR ALCÁCER SANTOS**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**2024**

## ANEXO No. 10

**PROCESO DE TITULACIÓN  
CERTIFICADO DEL PORCENTAJE DE COINCIDENCIAS  
DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Habiendo sido revisado el trabajo de titulación TITULADO: **Caracterización fitoquímica y antifúngica de extractos en hojas de Ruellia floribunda contra Pseudocercospora fijiensis, el agente causal de la Sigatoka negra** elaborado por **CARLOS ALBERTO FERRER SORROZA** fue remitido al sistema de coincidencias en todo su contenido el mismo que presentó un porcentaje del **5%**, mismo que cumple con el valor aceptado para su presentación que es inferior o igual al 10% sobre el total de hojas del documento. Adicional se adjunta captura de pantalla de dicho resultado.

 CERTIFICADO DE ANÁLISIS  
magister

**FERRER SORROZA CARLOS ALBERTO**  
**\_TFC\_19DIC2024**

5%  
Textos sospechosos

5% Similitudes  
0% similitudes entre comillas  
2% entre las fuentes mencionadas  
10% Idiomas no reconocidos (ignorado)

Nombre del documento: FERRER SORROZA CARLOS ALBERTO _TFC_19DIC2024.pdf ID del documento: 2ecb022af092e4669f96af8b7894b0b0215735e5 Tamaño del documento original: 1,78 MB Autores: []	Depositante: CESAR ALCACER SANTOS Fecha de depósito: 17/12/2024 Tipo de carga: interface fecha de fin de análisis: 17/12/2024	Número de palabras: 16.965 Número de caracteres: 133.746
---	--	---

**ATENTAMENTE,**Firmado electrónicamente por:  
**CESAR ALCACER  
SANTOS**

César Alcácer Santos, Ph.D.

18 de diciembre de 2024

**ANEXO No. 12**

**CERTIFICADO DE APROBACIÓN DEL TUTOR PARA LA PRESENTACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN CON INCORPORACIÓN DE LAS OBSERVACIONES DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL**

Samborondón, 18 de diciembre de 2024

Magíster

**Érika Ascencio Jordán**

**Facultad de Ingenierías, Arquitectura y Ciencias de la Naturaleza**

Universidad Tecnológica ECOTEC

De mis consideraciones:

Por medio de la presente comunico a usted que el trabajo de titulación TITULADO: **Caracterización fitoquímica y antifúngica de extractos en hojas de Ruellia floribunda contra Pseudocercospora fijiensis, el agente causal de la Sigatoka negra;** fue revisado y se deja constancia que el estudiante acogió e incorporó todas las observaciones realizadas por los miembros del tribunal de sustentación por lo que se autoriza a: **FERRER SORROZA CARLOS ALBERTO** , para que proceda a la presentación del trabajo de titulación para la revisión de los miembros del tribunal de sustentación y posterior sustentación.

**ATENTAMENTE,**



Firmado electrónicamente por:  
**CESAR ALCACER  
SANTOS**

**PhD. César Alcácer Santos**

**Tutor**

## **Agradecimiento**

A mis padres, MSyCF, cuya dedicación y apoyo incondicional han sido la base para alcanzar mis metas académicas y personales. Su ejemplo de esfuerzo y perseverancia ha sido mi mayor inspiración a lo largo de este camino.

Del mismo modo, expreso mi más sincero agradecimiento al MSc Kevin Cedeño Vines por su invaluable guía y sus valiosas aportaciones, fundamentales durante el desarrollo de este trabajo. Su experiencia y conocimiento resultaron esenciales para alcanzar los objetivos propuestos y superar los desafíos a lo largo de este proceso.

Extiendo mi gratitud a la Universidad Tecnológica Ecotec, al Dr. César Alcácer Santos y al equipo académico por proporcionar el entorno adecuado, las herramientas necesarias y la oportunidad invaluable que han sido fundamentales para consolidar mi formación académica y profesional durante la realización de este trabajo de investigación.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, de manera directa o indirecta, contribuyeron a la realización de este proyecto. Su apoyo y colaboración fueron decisivos para la culminación de este esfuerzo académico.

## Resumen

La creciente demanda alimentaria mundial y la necesidad de alternativas sostenibles ante los efectos negativos de los fungicidas sintéticos motivan la búsqueda actual de soluciones naturales. La Sigatoka Negra, causada por *Pseudocercospora fijiensis*, presenta resistencia a los controles convencionales, incrementando los costos, la contaminación y los riesgos para la salud en países productores de banano, como Ecuador; esto demanda la identificación de nuevos agentes antifúngicos para un manejo integrado de enfermedades más sostenible. Este estudio aborda esta problemática explorando extractos de *Ruellia floribunda* como una alternativa viable. Se recolectaron hojas de la especie y, mediante maceración y Soxhlet con solventes hidroalcohólicos y metanólicos, se obtuvieron los extractos. Tras el secado y molienda del material vegetal, se llevó a cabo un tamizaje fitoquímico cualitativo (reacciones de Mayer, Dragendorff, Hager, Wagner, cloruro férrico e hidróxido de potasio) para detectar metabolitos secundarios. Posteriormente, se efectuó una revisión sistemática de la literatura científica correlacionando los compuestos identificados con su posible potencial antifúngico contra *P. fijiensis*. La fase experimental se desarrolló en el laboratorio de Biología de la Universidad Tecnológica Ecotec, campus Samborondón, bajo condiciones controladas para optimizar la obtención y caracterización preliminar de compuestos bioactivos. Se identificaron alcaloides y cumarinas, así como otros metabolitos (flavonoides, taninos, saponinas, terpenoides y esteroides) con actividad antifúngica documentada, lo que sugiere la capacidad de *R. floribunda* para integrarse en programas de investigación y desarrollo destinados al control de *P. fijiensis*. Estos hallazgos sientan las bases para validar experimentalmente sus compuestos bioactivos y reducir la dependencia de productos sintéticos, promoviendo prácticas agrícolas más responsables y sostenibles en la producción de esta fruta.

**Palabras clave:** Banano, compuestos bioactivos, extractos vegetales, actividad antifúngica, sostenibilidad agrícola, fungicidas, metabolitos

## Abstract

The growing global food demand and the need for sustainable alternatives in response to the negative effects of synthetic fungicides drive the current search for natural solutions. Black Sigatoka, caused by *Pseudocercospora fijiensis*, exhibits resistance to conventional controls, increasing costs, pollution, and health risks in banana-producing countries such as Ecuador; this necessitates the identification of new antifungal agents for more sustainable integrated disease management. This study addresses this issue by exploring *Ruellia floribunda* extracts as a viable alternative. Leaves of the species were collected, and extracts were obtained using hydroalcoholic and methanolic solvents through maceration and Soxhlet extraction. Following the drying and grinding of the plant material, a qualitative phytochemical screening (Mayer, Dragendorff, Hager, Wagner reactions, ferric chloride, and potassium hydroxide tests) was conducted to detect secondary metabolites. Subsequently, a systematic review of the scientific literature was performed, correlating the identified compounds with their potential antifungal activity against *P. fijiensis*. The experimental phase was carried out in the Biology Laboratory of Universidad Tecnológica Ecotec, Samborondón campus, under controlled conditions to optimize the extraction and preliminary characterization of bioactive compounds. Alkaloids and coumarins, as well as other metabolites (flavonoids, tannins, saponins, terpenoids, and steroids) with documented antifungal activity, were identified, suggesting the capacity of *R. floribunda* to be integrated into research and development programs aimed at controlling *P. fijiensis*. These findings lay the groundwork for experimentally validating its bioactive compounds and reducing reliance on synthetic products, thereby promoting more responsible and sustainable agricultural practices in the production of this fruit.

**Palabras clave:** Banana, bioactive compounds, plant extracts, antifungal activity, agricultural sustainability

(página intencionalmente en blanco)

## Tabla de Contenidos

Resumen .....	iii
Abstract.....	iv
LISTA DE TABLAS .....	xi
LISTA DE FIGURAS .....	xii
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN.....	1
Contexto General del Estudio.....	1
Importancia Local.....	4
Identificación del Problema.....	4
Preguntas Científicas .....	5
Limitaciones del Trabajo.....	6
Justificación y Objetivos .....	7
Justificación.....	7
Hipótesis .....	8
Hipótesis Alternativa ( $H_1$ ).....	8
Hipótesis Nula ( $H_0$ ).....	8
Objetivos .....	8
Objetivo General.....	8
Objetivos Específicos .....	8
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO.....	10
Bases Teóricas.....	10
Introducción a Los Extractos Vegetales.....	10
Definición de Extractos Vegetales .....	10
Clasificación de los extractos vegetales .....	10
Métodos de Extracción Convencionales .....	10

Maceración .....	10
Extracción Soxhlet .....	11
Purificación de Extractos Vegetales.....	11
Filtración .....	11
Evaporación del Solvente .....	12
Tamizaje Fitoquímico .....	12
Metabolitos Secundarios .....	12
Tipos de Metabolitos Secundarios .....	12
Bioprospección.....	13
Fuentes de Biodiversidad Para la Bioprospección .....	13
El Cultivo de Banano .....	14
Historia y Relevancia Mundial del Cultivo de Banano .....	14
Morfología y Características Generales de la Planta de Banano .....	15
Clasificación Taxonómica de la Planta de Banano .....	16
La Sigatoka Negra.....	16
Historia y Descubrimiento de <i>Pseudocercospora fijiensis</i> .....	16
Clasificación Taxonómica del Agente Causal de la Sigatoka Negra .....	17
Ciclo de vida y características del hongo.....	17
Ruellia floribunda.....	19
Clasificación Taxonómica .....	19
Hábitat y Distribución.....	19
Descripción Botánica .....	20
Marco Teórico Fundamental.....	20
Teorías Sobre la Interacción Planta-Patógeno .....	20
Mecanismos de Infección de <i>Pseudocercospora fijiensis</i> .....	20

Estrategias de Defensa de las Plantas Frente a Patógenos.....	21
Interacción Planta-Patógeno: Factores que Determinan la Inmunidad.....	22
Los Extractos Vegetales en la Interacción Planta-Patógeno.....	22
Modo de Acción de los Extractos Vegetales Contra Patógenos Fúngicos.....	22
Sostenibilidad de los Extractos Vegetales Frente a Fungicidas Químicos.....	23
Propiedades Antifúngicas de Plantas de la Familia Acanthaceae.....	23
Compuestos Bioactivos de <i>Ruellia floribunda</i> .....	23
Evidencias Científicas de la Actividad Antifúngica del Género <i>Ruellia</i> .....	24
Estudios In Vitro en el Control de Enfermedades Fúngicas .....	24
Técnicas Para Evaluar Extractos Vegetales .....	24
Complementariedad de Estudios in Vitro e in Planta.....	24
Marco Teórico Conceptual.....	25
Definición de Extracto Vegetal.....	25
Concepto de Actividad Antifúngica .....	25
Marco Teórico Situacional .....	25
Impacto de la Sigatoka Negra en la Producción de Banano en Ecuador .....	25
Métodos Actuales de Control de la Sigatoka Negra y sus Limitaciones .....	26
Problemática Ambiental y Necesidad de Soluciones Sostenibles .....	27
Marco Teórico Contextual.....	27
Contexto Ambiental y Climático .....	27
Factores Ambientales que Favorecen la Expansión de La Sigatoka Negra .....	28
Contexto Social y Económico .....	28
Relevancia Socioeconómica del Banano en Ecuador .....	28
Efectos en la Comunidad Agrícola y la Sostenibilidad del Cultivo .....	28
Contexto Científico y Tecnológico .....	29

Innovaciones Biotecnológicas y Métodos Sostenibles Para el Manejo de Enfermedades .....	29
Uso de Extractos Vegetales como Alternativa en la Agricultura Sostenible.....	29
Estado del Arte.....	29
<b>CAPÍTULO 3: MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>33</b>
Introducción a la Metodología Utilizada .....	33
Alcance de la Investigación .....	34
Ubicación .....	34
Variables del Estudio.....	34
Objetivo 1: Obtención de Extractos .....	35
Materiales.....	35
Metodología.....	35
Recolección de las Hojas de <i>Ruellia floribunda</i> .....	35
Secado y Procesamiento Preliminar .....	36
Maceración .....	36
Extracción Soxhlet .....	37
Objetivo 2: Identificación Cualitativa de Metabolitos .....	37
Identificación de Alcaloides .....	38
Materiales .....	38
Metodología.....	39
Identificación de Compuestos Fenólicos y Taninos .....	40
Materiales .....	40
Metodología.....	40
Identificación de Cumarinas .....	40
Materiales .....	40

Metodología.....	41
Objetivo 3: Caracterización Fitoquímica y Antifúngica .....	41
Materiales.....	41
Metodología.....	41
Capítulo 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
Resultados 1: Obtención de Extractos.....	42
Resultados 2: Identificación Cualitativa de Metabolitos .....	43
Resultados 3: Caracterización Fitoquímica y Antifúngica .....	46
Capítulo 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	51
Conclusiones.....	51
Recomendaciones.....	52
BIBLIOGRAFÍA .....	53
APÉNDICES .....	70
Apéndice A: Caracterización Fitoquímica de <i>Ruellia floribunda</i> .....	70
Apéndice B: Documentación Gráfica del Proceso Experimental .....	71

**LISTA DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Taxonomía de la Planta .....	16
<b>Tabla 2.</b> Taxonomía del Hongo.....	17
<b>Tabla 3.</b> Taxonomía de la Planta .....	19
<b>Tabla 4.</b> Variables Independientes y Dependientes del Estudio.....	34
<b>Tabla 5.</b> Materiales Utilizados Para la Obtención de Extractos de <i>R. floribunda</i> . .....	35
<b>Tabla 6.</b> Recursos Utilizados Para la Detección de Alcaloides .....	38
<b>Tabla 7.</b> Recursos Utilizados Para la Detección de Compuestos Fenólicos y Taninos .....	40
<b>Tabla 8.</b> Recursos Utilizados Para la Detección de Cumarinas .....	40
<b>Tabla 9.</b> Recursos Utilizados Para la Caracterización se Metabolitos Secundarios. ....	41
<b>Tabla 10.</b> Propiedades Organolépticas y Volumen Final de los Extractos de <i>R. floribunda</i> .....	42
<b>Tabla 11.</b> Resultados en los Ensayos Utilizados Para la Identificación de Metabolitos.....	43
<b>Tabla 12.</b> Caracterización Antifúngica de los Metabolitos en <i>R. floribunda</i> . .....	47
<b>Tabla 13.</b> Revisión de Actividad Antifúngica Reportada en la Literatura Científica.....	49

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> Plantación de banano en El Triunfo, Ecuador.....	14
<b>Figura 2.</b> A. Lámina foliar, B. Inflorescencia C. Pseudopeciolo D. Rizoma..	15
<b>Figura 3.</b> Etapas de desarrollo de <i>P. fijiensis</i> .....	17
<b>Figura 4.</b> Plantas de banano con rayas necróticas en las hojas. ....	18
<b>Figura 5.</b> <i>Ruellia floribunda</i> , Guayaquil, Ecuador.....	19
<b>Figura 6.</b> Flujograma del proceso de estudio.....	33
<b>Figura 7.</b> Ubicación de especie en estudio..	36
<b>Figura 8.</b> Diagrama de metabolitos y ensayos realizados en el tamizaje fitoquímico. ....	38
<b>Figura 9.</b> Intensidad del metabolito en función del método de extracción. ....	44
<b>Figura 10.</b> Intensidad de los metabolitos en función de los ensayos practicados. ....	45
<b>Figura 11.</b> Comparación de la valoración de metabolitos según diferentes estudios. ....	46

## CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

### Contexto General del Estudio

La agricultura es uno de los pilares fundamentales para el desarrollo de la humanidad, ya que sustenta la producción de alimentos y garantiza la seguridad alimentaria. En la actualidad, el crecimiento anual del 1,13% en la población mundial proyecta la mayor parte de su incremento en países subdesarrollados y se estima que para el 2050 este desarrollo acelerado será de aproximadamente 9.600 millones de personas, un 34% más que hoy (Tripathi et al., 2019), lo que requeriría un aumento del 70% en la producción futura de alimentos para satisfacer la demanda (Morchid et al., 2024). Frente a este escenario se presentan importantes desafíos, entre ellos, la disyuntiva actual de aumentar los rendimientos y contenido nutricional en los cultivos o minimizar los impactos negativos asociados con la tecnología actual del sector agrícola en las dimensiones sociales, económicas y ambientales (FAO, 2016). Se estima que los recursos naturales, como el agua y la tierra, sean cada vez más limitados, por lo cual la innovación en el manejo integrado de enfermedades (*MIE*), a través de prácticas más responsables y respetuosas en los agroecosistemas, será crucial para lograr el equilibrio en los próximos años (Petrović et al., 2024). De manera que la necesidad por lograr una producción eficiente y sostenible hoy es más evidente que nunca.

En las últimas décadas, las tendencias en investigación y desarrollo (*I+D*) sugieren que la creciente resistencia a los fungicidas sintéticos y la preocupación por su impacto en la salud humana y el medio ambiente han impulsado la búsqueda de alternativas más sostenibles para el control de enfermedades fitopatogénicas (Chong et al., 2021; Esguera et al., 2024). Entre estas enfermedades se encuentran las que afectan gravemente la producción en musáceas a nivel mundial, la Sigatoka Negra *Pseudocercospora fijiensis* (Carreón-Anguiano et al., 2023), el Mal de Panamá *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 (Ploetz, 2015) y la Marchitez bacteriana

*Ralstonia solanacearum* raza 2 (Saquicela Cruz et al., 2023). De estos patógenos, *P. fijiensis*, causante de la enfermedad de la Sigatoka Negra, representa una de las epifitias más recurrentes para el cultivo de banano, constituyendo un riesgo considerable para la biodiversidad, la economía y la salud de las personas debido a la intensidad que requiere el control de sus umbrales, en países dependientes de esta fruta, como Ecuador (León-Serrano et al., 2020).

En la actualidad, el uso de extractos vegetales (*EV*) en calidad de fungicidas naturales se ha promovido como una estrategia prometedora y alineada con la demanda global de prácticas agrícolas más responsables y sostenibles (FAO, 2023; Naciones Unidas, 2018). Experiencias previas han demostrado que los *EV* pueden ejercer efectos antifúngicos del 65% al 100% contra patógenos como *P. fijiensis*, lo que sugiere su viabilidad como una alternativa a los productos químicos convencionales (Beltrame et al., 2021; Dissanayake et al., 2023; Friesen, 2016; Kumakech et al., 2022; Vargas-Hernández et al., 2009). En respuesta a las nuevas tendencias en los mercados internacionales, la *I+D* ha comenzado a centrar su interés en la bioprospección como un componente indiscutible para la innovación en sistemas agrícolas convencionales, contribuyendo a cerrar brechas entre el conocimiento del potencial bioactivo de la especie y sus posibles aplicaciones en programas de *MIE* u otros (Gianoni, 2021; Rosales-López et al., 2019).

El principal problema abordado en este estudio es la resistencia cada vez mayor de *P. fijiensis* a los fungicidas sintéticos (Carlier et al., 2021; Chong et al., 2021; Manzo-Sánchez y Orozco-Santos, 2012), lo que ha obligado a los productores de banano en Ecuador a intensificar la frecuencia y rotación de aplicaciones, pasando de 12-15 a 18-20 ciclos anuales, comprometiendo la sostenibilidad del cultivo en zonas de alta y mediana presión como El Oro y Los Ríos (CAMA E, 2022). Esta resistencia incrementada no solo amenaza la viabilidad económica en un 69.2% para los pequeños agricultores en regiones de Ecuador (Regalado et al., 2019), sino que también promueve los impactos ambientales derivados del uso intensivo de benomyl, propiconazol, azoxystrobin entre otros, tales como los riegos para salud humana y la

contaminación de suelos y aguas (Manzo-Sánchez y Orozco-Santos, 2012). En estas circunstancias, se vuelve necesario reducir la dependencia hacia los fungicidas actuales y evaluar nuevas alternativas fitoquímicas que puedan dar paso a controles más sostenibles alineados con las nuevas tendencias en los mercados internacionales.

Actualmente, si bien se han realizado estudios útiles en otras regiones (Dissanayake et al., 2023; Kumakech et al., 2022; Tenena et al., 2022; Vargas-Hernández et al., 2009), las limitaciones frecuentes radican en la falta de investigaciones específicas que analicen el potencial de los extractos vegetales previo a sus interacciones *in vitro* con *P. fijiensis* en el contexto ecuatoriano. Además, cabe señalar que la variabilidad en la composición química de estos extractos, influenciada por factores como el clima, la altitud y la etapa fenológica de la planta bioprospectada, pueden afectar su estandarización, lo que dificulta su pertinencia y utilidad a gran escala (Romero et al., 2023). Por otra parte, si bien las evaluaciones *in vitro* revelan el potencial antifúngico, no siempre reflejan las complejidades de un entorno real, donde los patosistemas de cultivos agrícolas juegan un papel fundamental en la efectividad de los diferentes métodos de control (Orozco-Santos et al., 2008). Finalmente, la posibilidad de implementar nuevas alternativas en programas de *MIE* enfrenta diversas barreras, entre ellas la necesidad de estandarizar del objeto de estudio. Además, de requerir una mayor exploración para su adaptación en zonas de mayor presión del patógeno, lo que implica una mayor inversión en *I+D*.

Dada la situación actual, el objetivo del presente estudio fue realizar la caracterización fitoquímica de los extractos vegetales de hojas en *Ruellia floribunda* y correlacionar los compuestos identificados con su potencial bioactivo frente a *P. fijiensis*. A través de esta exploración inicial, se buscó contribuir al conocimiento sobre las propiedades antifúngicas de especies presentes en bosques tropicales secos de Ecuador. Además, los resultados obtenidos permitieron establecer bases sólidas para futuras evaluaciones *in vitro* que podrían dar

perspectivas para el desarrollo de un fungicida natural, con posibilidades de integración en programas de *MIE*, promoviendo así alternativas sostenibles y respetuosas con el medio ambiente.

### **Importancia Local**

El cultivo de musáceas en Ecuador representa un pilar fundamental para su economía nacional, la producción de bananos y plátanos en el periodo 2022 – 2023 constituyó en promedio un valor FOB mensual de USD 348,5 millones, consolidándose como el segundo producto más relevante en exportaciones no petroleras – tradicionales (BCE, 2024). Su importancia trasciende lo económico, al proporcionar sustento a cerca de un millón de familias, equivalente al 17% de la población del país (FAO, 2016). De acuerdo a INEC (2024) la distribución del cultivo de banano en Ecuador se concentra principalmente en la Región Costa, con Los Ríos liderando la producción (37.7%), seguido por Guayas (31%) y El Oro (20.2%). La Región Sierra complementa con un 11%, alcanzando en conjunto el 89.0% del área total dedicada a este cultivo. Esta concentración geográfica de a notar la importancia local del sector bananero como eje central del desarrollo socioeconómico en estas provincias costeras.

### **Identificación del Problema**

La Sigatoka Negra, causada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis* Morelet, es responsable de las últimas epifitias en los cultivos de banano a nivel mundial, afectando gravemente la producción en países con alta dependencia económica de esta fruta, como Ecuador (Carlier et al., 2021; Turner y Fortescue, 2012). Este patógeno se encuentra distribuido ampliamente en regiones tropicales y representa la principal limitante concerniente a la productividad en musáceas (Manzo-Sánchez et al., 2005). El control de esta enfermedad del follaje en monocultivos ha dependido históricamente del uso intensivo de fungicidas químicos promovidos durante los inicios de la revolución verde en siglo XX (Aguilera Peña, 2022). Esta

estrategia ha llevado a un incremento en la resistencia del patógeno, obligando a los productores de banano en Ecuador a intensificar la frecuencia y rotación de aplicaciones de 12-15 a 18-20 ciclos anuales en zonas de alta y mediana presión como El Oro y Los Ríos, en Ecuador (CAMAE, 2022).

En la actualidad, se reconoce que el uso intensivo de fungicidas en los patosistemas agrícolas no solo supone un elevado uso de recursos, con una reducción del 69.2% en la viabilidad económica para los pequeños agricultores en regiones de Ecuador (Orozco-Santos et al., 2008; Regalado et al., 2019), sino que también plantea riesgos para la salud humana y el medio ambiente, como la contaminación de suelos y aguas por el uso de productos como benomyl, propiconazol y azoxystrobin y otros (Campo-Arana et al., 2020; Manzo-Sánchez y Orozco-Santos, 2012).

Dado este panorama, es evidente que el uso intensivo de fungicidas químicos para el control de la Sigatoka Negra, provocada por *P. fijiensis*, ha derivado la problemática actual, por lo cual su empleo ha dejado de ser una solución viable. El creciente costo económico, la resistencia del patógeno y los efectos perjudiciales sobre la salud y el medio ambiente subrayan la necesidad de explorar nuevas alternativas, adaptadas a la realidad agrícola de Ecuador y, por qué no, alineadas con las demandas globales de sostenibilidad (FAO, 2023; Naciones Unidas, 2018).

### **Preguntas Científicas**

Como resultado de la creciente resistencia de *Pseudocercospora fijiensis* a los fungicidas sintéticos, este estudio plantea la exploración de nuevas alternativas que puedan contrarrestar su problemática en los cultivos de banano en Ecuador. Dado que los métodos convencionales no han logrado controlar eficazmente al patógeno, surgen preguntas sobre el uso de los extractos de origen vegetal.

Es en este contexto que se establece la siguiente interrogante de investigación: ¿Puede la caracterización fitoquímica y antifúngica en los extractos de hojas en *Ruellia floribunda* demostrar potencial bioactivo significativo frente a *Pseudocercospora fijiensis*, el agente causal de la Sigatoka Negra?

### **Limitaciones del Trabajo**

La búsqueda de nuevas soluciones para el control de la Sigatoka Negra en musáceas ha sido un tema de investigación constante. Sin embargo, diversas limitaciones han dificultado una resolución concluyente de esta problemática en el contexto ecuatoriano.

Una de las principales limitaciones radica en la complejidad del patosistema de *Pseudocercospora fijiensis*. La alta variabilidad genética del hongo y su rápida adaptación a las condiciones ambientales han dificultado el desarrollo de estrategias de control duraderas (Chong et al., 2021; Orozco-Santos et al., 2008; Valdivieso Sánchez et al., 2021). Este desafío se magnifica en las condiciones climáticas de Ecuador, donde la humedad y temperatura favorecen la proliferación del patógeno (Esguera et al., 2024).

La búsqueda de actividad antifúngica en extractos vegetales como alternativa a los fungicidas sintéticos, si bien parece prometedora, enfrenta obstáculos significativos. La variabilidad en la composición química de los extractos, influenciada por factores edafoclimáticos y fenológicos, complican la estandarización de los tratamientos (Romero et al., 2023). Como resultado, la transición de las evaluaciones con potencial obtenidas en condiciones in vitro a controles efectivos en campo representa un desafío considerable. Esta brecha entre la investigación controlada y las aplicaciones prácticas han limitado la implementación de nuevas alternativas en programas de manejo integrado de enfermedades (MIE).

Desde una perspectiva económica, el desarrollo y la implementación de nuevas alternativas de manejo de Sigatoka negra requieren una inversión significativa en I+D (Campo-

Arana et al., 2020; Manzo-Sánchez et al., 2005; Robinson y Galán, 2012). La limitada disponibilidad de recursos financieros y tecnológicos, especialmente para pequeños y medianos productores, ha ralentizado la adopción de estas innovaciones en el sector bananero ecuatoriano (Aguilera Peña, 2022).

Finalmente, la falta de interés de las asociaciones productoras e instituciones gubernamentales en los fungicidas derivados de extractos vegetales en Ecuador ha complicado el avance y la adopción de estas tecnologías. Esta ausencia de intereses e incentivos económicos y regulatorios claros desalienta la inversión privada y académica en la *I+D* de productos basados en estas alternativas naturales (Regalado et al., 2019).

## **Justificación y Objetivos**

### ***Justificación***

La resistencia creciente a los fungicidas sintéticos y los riesgos asociados para la salud y el medio ambiente justifican la necesidad de explorar nuevos enfoques para el manejo de la Sigatoka Negra en la producción de banano. Ante esta problemática, estudios previos han demostrado que los extractos vegetales pueden ejercer efectos antifúngicos del 65% al 100% contra patógenos como *Pseudocercospora fijiensis*, lo que sugiere su potencial como una alternativa a los productos químicos tradicionales.

En la agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible esta bioprospección justifica su pertinencia en el ODS 2 “hambre cero” y ODS 12 “producción y consumo responsables”. En este contexto, la evaluación de la diversidad de especies en bosques tropicales ecuatorianos, representa una oportunidad significativa para la exploración inicial y posible identificación de algún componente de origen vegetal que permita dar perspectivas a futuro para el desarrollo de un fungicida natural que permita controlar los umbrales de la Sigatoka negra, beneficiando tanto

a la disminución de los riesgos para la salud como a la economía y al medio ambiente en Ecuador y otros países productores de banano. desarrollo

### **Hipótesis**

#### **Hipótesis Alternativa (H<sub>1</sub>)**

Los extractos de *Ruellia floribunda* contienen metabolitos secundarios relevantes según el análisis fitoquímico cualitativo preliminar y potencial antifúngico reportado en la literatura científica.

#### **Hipótesis Nula (H<sub>0</sub>)**

Los extractos de *Ruellia floribunda* no contienen metabolitos secundarios relevantes según el análisis fitoquímico cualitativo preliminar, ni presentan un potencial antifúngico significativo reportado en la literatura científica.

### **Objetivos**

#### **Objetivo General**

Evaluar el potencial bioactivo de los extractos de hojas en *Ruellia floribunda* mediante su caracterización fitoquímica y actividad antifúngica frente a *Pseudocercospora fijiensis*, identificando una alternativa de control de origen vegetal que permita dar perspectivas a futuro en su implementación en programas de MIE.

#### **Objetivos Específicos**

1. Obtener los extractos hidroalcohólico y metanol en hojas de *Ruellia floribunda* mediante extracción sólido-líquido
2. Identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos en hojas de *Ruellia floribunda* mediante un análisis fitoquímico cualitativo preliminar

3. Caracterizar la actividad antifúngica de *Ruellia floribunda* a partir de los metabolitos secundarios identificados, mediante un análisis sistemático de su actividad antifúngica reportada en la literatura científica

## CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

### Bases Teóricas

#### *Introducción a Los Extractos Vegetales*

##### **Definición de Extractos Vegetales**

Los compuestos de origen vegetal se han utilizado históricamente en diversas áreas, incluyendo la agricultura, debido a su extensa variedad de metabolitos secundarios. Estos extractos vegetales (*EV*) obtenidos de diferentes partes de las plantas, tales como hojas, raíces, cortezas o flores, se concentran en soluciones o suspensiones mediante diversos métodos de extracción, con el fin de aprovechar sus propiedades en diversas aplicaciones (Mesa et al., 2019).

##### **Clasificación de los extractos vegetales**

Los *EV* se clasifican principalmente según el tipo de solvente utilizado en su obtención. Los *extractos acuosos*, elaborados con agua como solvente son comunes debido a su bajo costo y facilidad de preparación (Carvalho et al., 2024). Los *extractos etanólicos*, utilizan etanol como solvente, lo que permite extraer una amplia gama de compuestos bioactivos, incluyendo fenoles y terpenos (Godlewska et al., 2021). Similarmente los *extractos metanólicos* utilizan metanol como solvente y son efectivos en la extracción de compuestos fenólicos y terpenos (Jha y Sit, 2022). Los *extractos de aceites esenciales* obtenidos por destilación de partes específicas de las plantas, como hojas y flores son ricos en terpenos (Bolouri et al., 2022), mientras que los *extractos de glicerina* utilizan glicerina no tóxica, como solvente y son conocidos por su capacidad para extraer compuestos fenólicos (Godlewska et al., 2021).

##### **Métodos de Extracción Convencionales**

###### ***Maceración***

Este método básico y sencillo de extracción a temperatura ambiente, es ideal para extraer compuestos termolábiles que podrían descomponerse con el calor. Este proceso implica

sumergir el material vegetal, como raíces, tallos o hojas, en un solvente (agua, etanol, vino, o vinagre) durante un tiempo prolongado (generalmente de 24 a 72 horas), permitiendo la disolución de compuestos activos solubles en el solvente. Para facilitar una extracción más completa, la mezcla se agita ocasionalmente y, al finalizar el proceso, se separa el extracto mediante filtración, preferentemente bajo vacío (Chuo et al., 2022).

### ***Extracción Soxhlet***

Este método de extracción sólido-líquido en caliente, permite obtener compuestos bioactivos como alcaloides, flavonoides, saponinas entre otros, mediante ciclos continuos de ebullición y condensación, que optimizan el contacto entre el solvente y el material vegetal. Durante los ciclos, el solvente se enriquece progresivamente con los componentes deseados, acumulándolos en el balón de destilación de manera eficiente (Valencia et al., 2020).

Este método es ideal para grandes cantidades de material vegetal, ofreciendo una extracción constante y completa. Sin embargo, los tiempos de extracción pueden variar significativamente: desde 30 minutos para soluciones acuosas hasta varios días para extractos alcohólicos (Rodino y Butu, 2019).

## **Purificación de Extractos Vegetales**

### ***Filtración***

Es fundamental para eliminar residuos o impurezas no deseadas presentes en el extracto líquido. Este proceso utiliza membranas de filtración garantizando que solo los compuestos solubles permanezcan en la solución, mejorando así la calidad y pureza de los extractos (Chen et al., 2023).

### ***Evaporación del Solvente***

Mediante la aplicación de calor o vacío, se evapora el solvente utilizado en la extracción, permitiendo concentrar así los compuestos bioactivos del extracto. Este proceso mejora la eficiencia y evita la degradación de los compuestos en el extracto final (Altemimi et al., 2017).

### ***Tamizaje Fitoquímico***

El tamizaje fitoquímico es un método preliminar cualitativo que permite detectar metabolitos secundarios bioactivos, como alcaloides, flavonoides y saponinas, en extractos vegetales. Esta técnica emplea reacciones químicas con solventes específicos que producen cambios visibles, como coloraciones o precipitados, confirmando la presencia de ciertos compuestos (Rattan, 2023).

### ***Metabolitos Secundarios***

Los (EV) deben su efectividad antifúngica a la presencia de metabolitos secundarios producidos a partir de metabolitos primarios mediante rutas biosintéticas especializadas (Mesa et al., 2019). Estos compuestos se encuentran naturalmente en muchas especies vegetales y son clave en su defensa contra patógenos, incluidos los hongos (Carvalho et al., 2024).

### ***Tipos de Metabolitos Secundarios***

Ávalos y Pérez-Urria, (2009) mencionan que los metabolitos secundarios en las plantas se agrupan en cuatro clases principales: *terpenos*, *fenoles*, *glucósidos* y *alcaloides*.

Los *terpenos*, también conocidos como isoprenoides, derivan de unidades de isopreno y comprenden una amplia variedad de compuestos que incluyen hormonas, pigmentos y aceites esenciales, los cuales se sintetizan por rutas como la del ácido mevalónico (Chuo et al., 2022).

Los *fenoles* contienen un anillo aromático hidroxilado que les confiere propiedades antioxidantes y protectoras, como el control de patógenos también actúan a modo de pigmentos como los lignanos y taninos (Cui et al., 2020).

Los *glucósidos* se forman mediante la unión de un azúcar con una aglicona, y dentro de ellos destacan las saponinas y los glicósidos cianogénicos (El Aziz et al., 2019).

Finalmente, los *alcaloides* contienen átomos de nitrógeno y se sintetizan a partir de aminoácidos, teniendo una gama de actividades biológicas importantes (Tan et al., 2022).

### **Bioprospección**

La bioprospección hace referencia a la búsqueda de compuestos de origen biológico que pueden ser utilizados por sus propiedades en diferentes campos, entre ellos, la protección de cultivos en la agricultura (Krishnan et al., 2021).

La exploración sistemática contribuye al desarrollo de soluciones sostenibles mediante la adición de nuevos agentes de biocontrol y productos naturales, aprovechando el potencial de la biodiversidad actual sin causar efectos adversos al medio ambiente (Scortichini, 2022).

### **Fuentes de Biodiversidad Para la Bioprospección**

Los bosques secos de la costa ecuatoriana, son ecosistemas de alta biodiversidad y gran importancia ecológica. Estas áreas albergan numerosas especies adaptadas a condiciones áridas, muchas de las cuales producen metabolitos secundarios con potencial bioactivo, incluyendo propiedades antifúngicas (Aguirre et al., 2006).

En el contexto de esta evaluación el bosque seco constituye una fuente prometedora para la bioprospección, destacándose como un recurso natural valioso para el desarrollo de alternativas sostenibles en la agricultura moderna.

### ***El Cultivo de Banano***



**Figura 1.** Plantación de banano en El Triunfo, Ecuador. Foto: Cortesía Ing. Erick Salinas.

#### **Historia y Relevancia Mundial del Cultivo de Banano**

El banano, una de las frutas más antiguas cultivadas por el ser humano, ha estado asociado con la alimentación de diversas civilizaciones durante miles de años. Los triploides del grupo *Musa acuminata* y *Musa balbisiana* (AAA, AAB y ABB) han sido fundamentales en la nutrición global, especialmente en los países tropicales (Turner y Fortescue, 2012). En la actualidad, el comercio internacional de banano AAA se centra en la variedad *Cavendish*, que representa el 47% de la producción mundial y el 95% de las exportaciones globales (Sayan et al., 2023). Sin embargo, en África, los híbridos triploides de *M. acuminata* y *M. balbisiana* son predominantes para el consumo local, como destaca Robinson y Galán (2012). Este hecho refleja la dualidad del cultivo de banano: por un lado, su importancia como alimento básico en regiones tropicales y, por otro, su rol como mercancía de gran valor en mercados internacionales.

## Morfología y Características Generales de la Planta de Banano



**Figura 2.** A. Lámina foliar, B. Inflorescencia C. Pseudopeciolo D. Rizoma. Foto: Cortesía Ing. Erick Salinas.

La planta de banano es una monocotiledónea perenne del género *Musa*, conocido por su gran tamaño y estructura distintiva, su morfología se distribuye espacialmente mediante rizomas subterráneos de los cuales emergen hojas en sus ápices, estas tienen vainas envolventes y fuertemente compactadas que forman un tallo aparente, dentro del cual se desarrolla el eje floral que da origen a la inflorescencia en racimo (Karamura y Karamura, 1995).

Generalmente, cada rizoma produce yemas que se distribuirán radialmente, lo que permite la sucesión y el crecimiento de nuevos hijuelos. Algunos de estos hijuelos no se conectan adecuadamente a la planta principal, denominándose "hijos de agua", mientras que los que sí se conectan adecuadamente se conocen como "hijos de espada" y se usaran para su propagación vegetativa (Price, 1995).

## Clasificación Taxonómica de la Planta de Banano

**Tabla 1.** Taxonomía de la Planta

CATEGORÍA	CLASIFICACIÓN
Dominio	Eukaryota
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Subdivisión	Angiospermae
Clase	Liliopsida
Subclase	Zingiberidae
Orden	Zingiberales
Familia	Musaceae
Género	<i>Musa</i>
Especie	<i>M. acuminata</i>
Nombre Científico	<i>Musa acuminata</i>

**Nota:** Elaborado por autor (2024). Fuente: (Turner y Fortescue, 2012).

### La Sigatoka Negra

#### Historia y Descubrimiento de *Pseudocercospora fijiensis*

El agente causal de la Sigatoka Negra pertenece al reino Fungi, la especie fue descrita por primera vez en 1964 por Morelet, a partir de muestras recolectadas en el valle de Sigatoka, ubicado en Viti Levu, la principal isla de Fiji, donde la enfermedad presentó su primer brote conocido, lo que dio origen a su nombre científico (Deighton, 1976; Morelet, 1969).

Este hongo ascomiceto pasa por una fase sexual heterotámica anteriormente conocida como *Mycosphaerella fijiensis* y una asexual o anamorfa previamente denominada *Pseudocercospora fijiensis* sin embargo, actualmente se unifican bajo el nombre científico *Pseudocercospora fijiensis* en línea con la Declaración de Amsterdam "un hongo, un nombre" (Hawksworth et al., 2011).

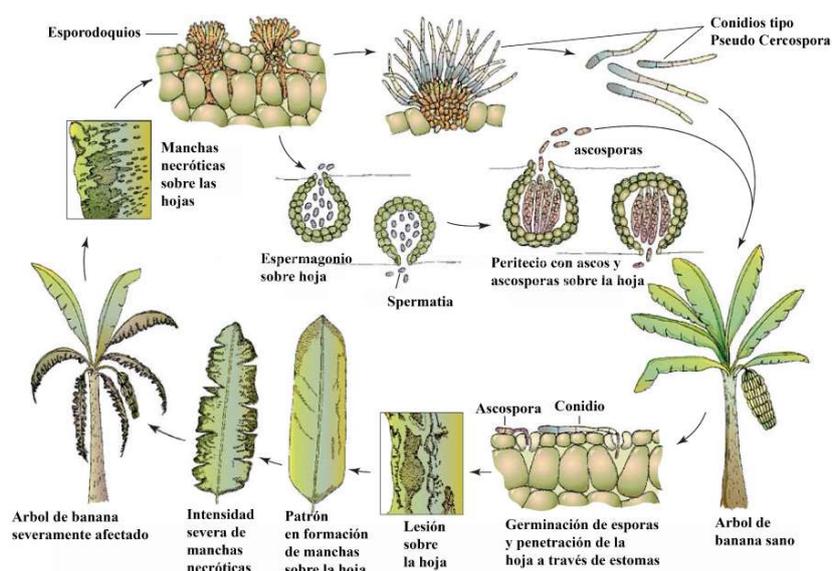
## Clasificación Taxonómica del Agente Causal de la Sigatoka Negra

**Tabla 2.** Taxonomía del Hongo

CATEGORÍA	CLASIFICACIÓN
Dominio	Eukaryota
Reino	Fungi
División	Ascomycota
Subdivisión	Pezizomycotina
Clase	Dothideomycetes
Subclase	Dothideomycetidae
Orden	Pseudocercosporales
Familia	Pseudocercosporaceae
Género	<i>Pseudocercospora</i>
Especie	<i>P. fijiensis</i>
Nombre Científico	<i>Pseudocercospora fijiensis</i> (M. Morelet) Deighton

**Nota:** En cumplimiento con la declaración "un hongo, un nombre", adoptado en 2011, ambas fases de este hongo se han unificado bajo el nombre *Pseudocercospora fijiensis*, reflejando un solo nombre para facilitar su identificación científica. Elaborado por autor (2024). Fuente: (Hawksworth et al., 2011).

### Ciclo de vida y características del hongo



**Figura 3.** Etapas de desarrollo de *P. fijiensis*. Fuente: (Agrios, 2005).

*P. fijensis* sigue un ciclo de vida complejo, pasando de esporas a infección activa en las hojas, lo que conduce a la necrosis de los tejidos afectados y reduce la fotosíntesis (Noar et al., 2022).



**Figura 4.** Plantas de banano con rayas necróticas en las hojas. Fuente: (Noar et al., 2022).

Los síntomas incluyen manchas negras en las hojas que progresan a áreas necróticas, afectando tanto el desarrollo como la producción de frutos. Este hongo hemibiotrófico combina fases biotróficas y necrotróficas, lo que le permite persistir en los tejidos del huésped antes de destruirlos. Su ciclo de vida incluye la producción de conidios asexual y ascosporas sexuales que se dispersan por viento y agua (CHURCHILL, 2011; Esguera et al., 2024).

***Ruellia floribunda***

**Figura 5.** *Ruellia floribunda*, Guayaquil, Ecuador. Foto: Autor 2024.

**Clasificación Taxonómica**

**Tabla 3.** Taxonomía de la Planta

CATEGORÍA	CLASIFICACIÓN
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Acanthaceae
Género	<i>Ruellia</i>
Especie	<i>Ruellia floribunda</i> Hook., 1831

**Nota:** Elaborado por autor (2024). Fuente: (Macías, 2015).

**Hábitat y Distribución**

*Ruellia floribunda* es nativa de regiones tropicales y subtropicales, distribuyéndose ampliamente en países de América Central y del Sur. En Ecuador, es una especie endémica de la Región Tumbesina, ubicada entre Ecuador y Perú, se distribuye en las provincias de Manabí,

Santa Elena, Guayas y en las Islas Galápagos (Macías, 2015). Es frecuente en zonas boscosas y matorrales y especialmente resistente a cambios estacionales, lo que le permite adaptarse a diversas altitudes y tipos de suelo, incluidos los de bosques secos y húmedos tropicales.

### **Descripción Botánica**

Es una planta herbácea perennifolia que mide entre 30 y 60 cm de altura. Presenta tricomas glandulares, hojas elípticas con pubescencia, e inflorescencias en forma de panícula con tricomas glandulares y flores de color magenta (Macías, 2015).

### **Marco Teórico Fundamental**

#### **Teorías Sobre la Interacción Planta-Patógeno**

#### ***Mecanismos de Infección de Pseudocercospora fijiensis***

*Pseudocercospora fijiensis* el agente causal de la Sigatoka Negra, emplea una compleja combinación de mecanismos que facilitan su invasión y adaptación en el hospedante, haciéndolo difícil de controlar. Este patógeno utiliza la secreción de efectores que interfieren con las defensas inmunológicas de la planta, creando condiciones favorables para su propagación y supervivencia (Zhang et al., 2022). A nivel genómico, *P. fijiensis* posee un genoma expandido con cromosomas adicionales y retrotransposones, lo que le permite adaptarse rápidamente y desarrollar mayor patogenicidad. Entre los genes clave que facilitan esta capacidad se encuentran aquellos relacionados con el metabolismo secundario, las quinasas de proteínas activadas por mitógenos y las proteínas de la pared celular (Noar et al., 2022). Los conidios de *P. fijiensis* también contribuyen a su patogenicidad mediante factores y efectores de patogenicidad, incluidas las familias RXLR, LysM y Y/F/WxC, que participan en varios procesos biológicos y metabolismos (Carreón-Anguiano et al., 2023). Además, muestra una alta variabilidad y ha experimentado una expansión significativa debido a la invasión de intrones

móviles. Esta diversidad genética contribuye al potencial evolutivo y la adaptabilidad del patógeno (Arcila-Galvis et al., 2021).

### ***Estrategias de Defensa de las Plantas Frente a Patógenos***

Las plantas han desarrollado varias respuestas de defensa para combatir las infecciones por hongos patógenos. La primera línea de defensa es la cutícula, que limita la entrada de microorganismos al actuar como barrera física (Iqbal et al., 2021). Cuando el sistema inmune innato vegetal detecta señales de ataque, como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y señales de daño (DAMPs), se activan respuestas de inmunidad desencadenada por PAMPs (PTI) y, en situaciones de infección avanzada, inmunidad activada por efectores (ETI), que responde a proteínas específicas del patógeno (Nishad et al., 2020).

Aragón-Gómez et al (2024) describe que, entre las respuestas tempranas de defensa en las plantas, el flujo iónico se activa mediante cambios en la entrada de calcio y salida de potasio, lo que ayuda a preparar a la célula para enfrentar la infección. Seguidamente, ocurre el estrés oxidativo, donde se generan especies reactivas de oxígeno (ROS) como el peróxido de hidrógeno, que actúan tanto en defensa antimicrobiana como en señalización interna. La respuesta hipersensible y muerte celular programada son otras estrategias clave, donde las células infectadas se autodestruyen para evitar la propagación del patógeno, siendo especialmente útiles contra patógenos biotróficos. La participación de fitohormonas como el ácido salicílico y el ácido jasmónico, regula estas respuestas de defensa, orientándolas según el tipo de patógeno. La acumulación de calosa también refuerza la pared celular, creando barreras físicas adicionales contra la infección. Finalmente, los cambios transcripcionales activan genes específicos de defensa, reorganizando la respuesta de la planta no solo en el sitio de la infección, sino también en tejidos distantes para una defensa más robusta y eficaz.

### ***Interacción Planta-Patógeno: Factores que Determinan la Inmunidad***

La resistencia o susceptibilidad de una planta a un patógeno depende de factores como la variabilidad genética, la estructura de la pared celular y la capacidad de activar respuestas defensivas rápidamente. Koseoglou et al. (2022) refieren que la presencia *genes específicos*, incluidos los genes de resistencia (R) y los de susceptibilidad (S) son cruciales. Los R suelen codificar receptores que reconocen la invasión de patógenos, mientras que los S facilitan la infección de estos. Las plantas emplean refuerzos estructurales en la pared celular para retardar o prevenir la penetración de patógenos o la respuesta hipersensible, que implica la muerte celular localizada (Saur y Hückelhoven, 2021). Así también, la activación rápida de los mecanismos de respuesta puede reducir significativamente el desarrollo de la enfermedad, mientras que las manifestaciones tardías suelen dar lugar a una mayor susceptibilidad (Kondratev et al., 2020).

Sin embargo, los patógenos también evolucionan constantemente para superar estas defensas. Qin et al. (2020) mencionan que a menudo manipulan los procesos celulares del huésped, como el reclutamiento de fosfoinosítidos específicos a la membrana interfacial planta-patógeno. De igual forma, han desarrollado efectores para suprimir las defensas activadas por MAMP (patrones moleculares asociados a microorganismos) alterando proteínas y produciendo toxinas para inhibir respuestas inmunitarias además de explotar factores de susceptibilidad como la pectato liasa en frutos, lo que facilita la infección si este supera sus defensas complicando el desarrollo normal de las plantas (Nishad et al., 2020; Silva et al., 2021).

### **Los Extractos Vegetales en la Interacción Planta-Patógeno**

#### ***Modo de Acción de los Extractos Vegetales Contra Patógenos Fúngicos***

Los extractos vegetales actúan contra los hongos fitopatógenos mediante diversos mecanismos. Tan et al. (2022) describen que, pueden *alterar la membrana celular*, afectando su estructura y función, lo que lleva a su muerte celular. También pueden generar *especies reactivas*

de oxígeno (ROS), que causan estrés oxidativo dentro de las células fúngicas, induciendo apoptosis. Además, muchos compuestos bloquean la *síntesis de ácidos nucleicos*, impidiendo que se reproduzcan. Otro mecanismo importante es la *inhibición de la biosíntesis de ergosterol*, un componente clave de la membrana fúngica, lo que compromete la supervivencia de los hongos.

### ***Sostenibilidad de los Extractos Vegetales Frente a Fungicidas Químicos***

Los Extractos Vegetales ofrecen diversas ventajas al compararse con los fungicidas químicos tradicionales. Estos se describen como productos naturales que, al ser biodegradables, reducen su impacto ambiental, y presentan una menor probabilidad de generar resistencia en los patógenos (Souto et al., 2021). Los metabolitos secundarios presentes en diferentes (EV) pueden emplearse como bioestimulantes y bioprotectores, mejorando el crecimiento y el rendimiento de las plantas y al mismo tiempo reduciendo el impacto del estrés abiótico y biótico (Ben Mrid et al., 2021).

### **Propiedades Antifúngicas de Plantas de la Familia Acanthaceae**

#### ***Compuestos Bioactivos de Ruellia floribunda***

La familia Acanthaceae, a la cual pertenece *Ruellia floribunda*, es reconocida por su diversidad de metabolitos bioactivos, incluyendo flavonoides, alcaloides y saponinas, que han mostrado efectos terapéuticos y antifúngicos. Las plantas de esta familia han sido evaluadas extensivamente por sus propiedades antifúngicas, antiinflamatorias, citotóxicas, antioxidantes, e insecticidas demostrando resultados efectivos contra diversos patógenos (Rattan, 2023). Estos compuestos no solo favorecen la defensa contra microorganismos, sino que también poseen potencial antioxidante y antiinflamatorio, lo que respalda su investigación como fuente alternativa en el control de enfermedades fúngicas (Ullah et al., 2021).

### ***Evidencias Científicas de la Actividad Antifúngica del Género Ruellia***

El género *Ruellia* destaca por la presencia de compuestos fenólicos y taninos que intervienen en la actividad biológica contra varios patógenos (Jagtap et al., 2022) Investigaciones han demostrado que extractos de hojas, raíces y tallos de especies como *Ruellia nudiflora*, *Ruellia tuberosa*, *Ruellia asperula* y *Ruellia paniculata* poseen actividad antibacteriana y antifúngica (Safitri et al., 2019; Ullah et al., 2021; Vasconcelos et al., 2023), lo que señala el posible potencial de *Ruellia floribunda* como agente de control para la Sigatoka negra en ensayos in vitro.

### **Estudios In Vitro en el Control de Enfermedades Fúngicas**

#### ***Técnicas Para Evaluar Extractos Vegetales***

Los ensayos in vitro permiten evaluar de manera controlada el potencial de los *EV* mediante pruebas de inhibición de crecimiento micelial (Cerna-Chávez et al., 2019) y germinación de esporas (Raymundo-Jiménez et al., 2019), siendo técnicas ampliamente aplicadas en el estudio de alternativas naturales para el control de diferentes patógenos. Estas metodologías, que incluyen pruebas de difusión en placa y concentración inhibitoria mínima (Altamirano-Fernández et al., 2021), ofrecen resultados confiables al eliminar factores externos, posibilitando una comprensión profunda in vitro de los mecanismos antifúngicos de extractos evaluados.

#### ***Complementariedad de Estudios in Vitro e in Planta***

Los estudios in vitro e in planta para el control de patógenos agrícolas ofrecen ventajas y limitaciones complementarias. Los ensayos in vitro han permitido evaluar rápidamente la efectividad de agentes de biocontrol contra patógenos como *Fusarium spp.* (Colombo et al., 2019) y *Ralstonia solanacearum* (Clough et al., 2022), aunque no siempre reflejan el comportamiento en campo, debido a complejas interacciones en sus patosistemas. En cambio, los estudios in planta, que incluyen pruebas en condiciones naturales, ofrecen una

representación más precisa de la eficacia de los agentes de control, aunque suelen ser más costosos y complicados de realizar (Gwiazdowski et al., 2023). La combinación de ambos enfoques es crucial para desarrollar métodos efectivos y sostenibles en la protección de cultivos.

### ***Marco Teórico Conceptual***

#### **Definición de Extracto Vegetal**

Los extractos vegetales se refieren a compuestos bioactivos obtenidos a partir de materiales vegetales como hojas, raíces o flores, que contienen metabolitos secundarios con efectos terapéuticos o pesticidas (Uwineza y Waśkiewicz, 2020). Estos compuestos son esenciales en la medicina tradicional y en el control de plagas debido a su actividad antimicrobiana y antifúngica (Romero et al., 2023).

#### **Concepto de Actividad Antifúngica**

La actividad antifúngica se refiere a la capacidad de un compuesto para inhibir el crecimiento de hongos patógenos, una cualidad importante en el manejo de enfermedades en cultivos (Castillo, 2021). Esta actividad se mide generalmente a través de la concentración mínima inhibitoria, que es la menor concentración necesaria para impedir el crecimiento fúngico (Montes de Oca, 2019). Otros ensayos adicionales incluyen pruebas de toxicidad y ensayos de difusión en agar, que permiten evaluar la capacidad inhibidora en medios sólidos y establecer la potencia relativa del compuesto (Pérez Esteve y Rivas Soler, 2021).

### ***Marco Teórico Situacional***

#### **Impacto de la Sigatoka Negra en la Producción de Banano en Ecuador**

Ecuador es uno de los principales exportadores de banano a nivel mundial, abasteciendo una parte significativa del mercado global (BCE, 2024; INEC, 2024). La producción bananera es uno de los sectores económicos más importantes del país, con una gran contribución a la generación de empleo y divisas (León-Serrano et al., 2020). Sin embargo, la Sigatoka Negra,

causada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis*, afecta directamente la productividad al reducir la capacidad fotosintética de las plantas (Esguera et al., 2024). En Ecuador el manejo de los umbrales de esta enfermedad fúngica representa hasta un 30% aproximadamente del costo total de producción lo que ha provocado pérdidas económicas, así como una reducción en el rendimiento y calidad de la fruta, limitando su competitividad en el mercado internacional (Regalado et al., 2019).

### **Métodos Actuales de Control de la Sigatoka Negra y sus Limitaciones**

Para mitigar los efectos de la Sigatoka Negra, los productores de banano en Ecuador recurren principalmente a grupos químicos preventivos a base de Mancozeb o clorotalonil y sistémicos como los benzimidazoles, triazoles, estrobilurinas morfolinas, aplicados con frecuencia debido a la alta capacidad de resistencia del hongo. Sin embargo, estos tratamientos presentan limitaciones significativas ya que representan un costo elevado y un riesgo de contaminación ambiental y para la salud humana debido a su toxicidad acumulativa (Campo-Arana et al., 2020). Además, la resistencia que *P. fijiensis* ha desarrollado a varios fungicidas demanda aplicaciones constantes y en dosis cada vez mayores, complicando el manejo eficaz de la enfermedad (Chong et al., 2021; Esguera et al., 2024). Otras alternativas incluyen el método de control biológico y el uso de extractos vegetales, los cuales ofrecen una menor toxicidad ambiental y podrían reducir la dependencia de químicos, aunque aún están en etapas de investigación y requieren pruebas de eficacia a gran escala (Kumakech et al., 2022; Seydou et al., 2021).

Por otra parte, los métodos de control cultural para manejar la Sigatoka Negra se centran en minimizar el inóculo del patógeno y las condiciones que favorecen su desarrollo, además de promover el vigor del cultivo. Estas prácticas incluyen la eliminación total o parcial de hojas infectadas para reducir la esporulación del hongo y su propagación. Una estrategia alternativa

es el "minicomposteo", donde los residuos de hojas y plantas se agrupan en montones para acelerar su degradación, lo que no solo disminuye el inóculo, sino que también mejora la calidad del suelo al incorporar materia orgánica y nutrientes. Complementariamente, el manejo agronómico, como el control de densidad de plantación, sistemas de drenaje eficientes, control de malezas, y fertilización balanceada, contribuye a crear condiciones menos propicias para el hongo y a incrementar la resistencia de las plantas (Orozco-Santos et al., 2008).

### **Problemática Ambiental y Necesidad de Soluciones Sostenibles**

El uso intensivo de fungicidas en los cultivos de banano genera preocupaciones ambientales significativas, incluyendo la contaminación de suelos, cuerpos de agua y pérdida de biodiversidad en ecosistemas cercanos (Seydou et al., 2021). Estos problemas ambientales resaltan la urgencia de adoptar enfoques agrícolas más sostenibles que minimicen el impacto ecológico sin comprometer la producción. En este contexto, la búsqueda de soluciones basadas en extractos vegetales y agentes biocontroladores es fundamental para avanzar hacia una agricultura menos dependiente de insumos químicos, alineándose con las tendencias globales hacia prácticas más responsables y sostenibles (Souto et al., 2021).

### ***Marco Teórico Contextual***

#### **Contexto Ambiental y Climático**

#### ***Impacto del Cambio Climático en la Proliferación de Enfermedades Agrícolas***

FAO (2021) refiere que se prevé que el cambio climático incremente la incidencia y gravedad de plagas y enfermedades en cultivos tropicales, debido a la adición gradual de temperaturas y a la variabilidad en las precipitaciones.

### ***Factores Ambientales que Favorecen la Expansión de La Sigatoka Negra***

Esguera et al. (2024) señalan que el aumento de la humedad relativa y las temperaturas cálidas crean condiciones ideales para la proliferación de *Pseudocercospora fijiensis*, el hongo causante de la Sigatoka Negra en el banano, debido a que favorecen su ciclo de vida y la propagación de sus ascosporas. Por otra parte, simulaciones evidencian que la tendencia hacia un futuro más seco está aumentando en áreas como el cantón Valencia, posiblemente afectando la producción de banano y poniendo en riesgo la distribución geográfica del cultivo, la seguridad alimentaria y económica en países dependientes de esta fruta como Ecuador (Rodríguez et al., 2023).

### **Contexto Social y Económico**

#### ***Relevancia Socioeconómica del Banano en Ecuador***

El banano es un pilar socioeconómico fundamental en Ecuador, ya que el país es uno de los principales exportadores de esta fruta a nivel mundial, generando empleo y aportes significativos al PIB (BCE, 2024). Su relevancia va más allá del ámbito económico, al ser fuente de sustento para aproximadamente un millón de familias, lo que equivale al 17% de la población ecuatoriana (FAO, 2016).

#### ***Efectos en la Comunidad Agrícola y la Sostenibilidad del Cultivo***

Enfermedades como la Sigatoka Negra no solo disminuyen el rendimiento y calidad del fruto para exportación, sino que también elevan los costos de producción por la necesidad de aplicar controles fitosanitarios constantes, impactando negativamente en la sostenibilidad local del cultivo, afectando al sector agrícola primario y su rol como principal fuente de ingresos a nivel nacional (León-Serrano et al., 2020). Las pérdidas en la producción afectan directamente a pequeños y grandes productores locales, donde muchas familias dependen del cultivo del banano como su principal fuente de ingresos (Regalado et al., 2019). Esto intensifica los desafíos

en las dimensiones sociales y económicos, al igual que la vulnerabilidad de estos ante las fluctuaciones en los precios y el costo de insumos necesarios para controlar esta enfermedad (FAO, 2023).

## **Contexto Científico y Tecnológico**

### ***Innovaciones Biotecnológicas y Métodos Sostenibles Para el Manejo de Enfermedades***

La biotecnología y el control biológico han demostrado ser herramientas clave para el manejo de plagas y enfermedades en cultivos agrícolas, ofreciendo soluciones innovadoras y sostenibles (Vinchira-Villarraga y Moreno-Sarmiento, 2019). En particular, el uso de extractos vegetales con propiedades antifúngicas, destaca por sus potenciales aplicaciones frente a los desafíos actuales en la agricultura moderna (Rosales-López et al., 2019).

### ***Uso de Extractos Vegetales como Alternativa en la Agricultura Sostenible***

Los extractos vegetales se derivan de plantas que contienen compuestos bioactivos capaces de inhibir el crecimiento de patógenos como *Pseudocercospora fijiensis*, ofreciendo una alternativa menos perjudicial para el ambiente en comparación con los fungicidas químicos tradicionales (Beltrame et al., 2021; Kumakech et al., 2022; Sánchez, 2022; Seydou et al., 2022; Valdivieso Sánchez et al., 2021). La investigación en métodos de control sostenibles y su posible integración en prácticas agrícolas modernas es esencial para enfrentar los desafíos ambientales y económicos del sector bananero en Ecuador y otros países productores (Aguilera Peña, 2022).

## **Estado del Arte**

En la actualidad existe gran interés por la búsqueda de alternativas más sostenibles para el control de enfermedades fitopatogénicas en el sector agrícola (Chong et al., 2021; Esguera et al., 2024). Dentro de las alternativas con grandes potenciales se encuentra la bioprospección de

especies vegetales, estos extractos en particular contienen compuestos bioactivos, con potencial para inhibir el crecimiento de diversos patógenos (Krishnan et al., 2021).

En el caso de *Ruellia floribunda*, algunos estudios preliminares sugieren su potencial antifúngico y antibacteriano debido a la presencia de metabolitos secundarios con actividad inhibitoria en enfermedades de interés público (Rendón et al., 2018). Sin embargo, su efectividad contra *Pseudocercospora fijiensis* aún no ha sido confirmada y representa un área de investigación en posible expansión y un vacío importante en la literatura científica.

En el estudio “Extractos de plantas como agentes potenciales de control de la Sigatoka Negra en el banano” realizado por Kumakech et al. (2022) se investigó el uso de extractos de plantas como agentes potenciales de control frente a la Sigatoka Negra en banano. Se evaluaron los extractos acuosos de *Cinnamomum zeylanicum*, *Capsicum annum* y *Azadirachta indica* en ensayos in vitro, *A. indica* y *C. annum* inhibieron completamente el crecimiento de *Pseudocercospora fijiensis* a una concentración de 0.3 g/ml, similar al fungicida, mientras que *C. zeylanicum* solo alcanzó un 33 % de inhibición en esta misma concentración. Además, los resultados mostraron que los extractos de *A. indica* y *C. annum* aplicados en pulverizaciones foliares redujeron la severidad de la Sigatoka Negra en un 69.3% y 65.6%, respectivamente, en comparación con el fungicida tradicional difenoconazol.

Beltrame et al. (2021) en su estudio in vitro “Prospección de plantas bioactivas para el control del complejo de enfermedades de Sigatoka en el banano” evaluaron los extractos hidroalcohólicos de hojas de limoncillo *Elionurus latiflorus*, guaco *Mikania glomerata* y chanca piedra *Phyllanthus amarus*, junto con aceites esenciales de limoncillo *Elionurus latiflorus*, eucalipto *Eucalyptus citriodora* y melaleuca *Melaleuca alternifolia*. Los resultados muestran que los aceites esenciales lograron inhibir hasta en un 100% el crecimiento de *P. fijiensis*, mientras

que los extractos hidroalcohólicos alcanzaron hasta un 52% de inhibición. Sin embargo, su eficacia en campo fue limitada.

Sánchez (2022) enfocó su investigación en la evaluación de fungicidas orgánicos a base de extracto canela *Cinnamomum zeylanicum*, aceite de canela *C. zeylanicum* y extracto de la gobernadora *Larrea tridentata* para controlar la Sigatoka Negra, reduciendo el porcentaje de área foliar afectada y el índice de severidad de la enfermedad en la hoja 1 y 2. El ensayo utilizó plantas de banano cv. Williams y los fungicidas orgánicos solos mostraron diferencias estadísticas significativas frente al testigo más afectado en época lluviosa y seca.

Investigaciones como la Dissanayake et al. (2023) sobre “Eficacia de la mezcla botánica y fungicidas para combatir la enfermedad de Sigatoka en el cultivo de banano” sugieren que las combinaciones de mezclas botánicas (*MB*) y fungicidas pueden reducir el número de ciclos de pulverización de químicas siendo más efectivas que usar cualquiera de ellas por separado. Sin embargo, también destacan que se requiere de la aislación y caracterización de moléculas activas responsables de la actividad antifúngica en las *MB*.

Por otra parte, la investigación sobre *P. fijiensis*, ha demostrado que su amplio genoma y la presencia de metabolitos secundarios patogénicos, como los derivados de rutas de melaninas, son factores determinantes de su virulencia (Noar et al., 2022) Además, estudios comparativos sugieren que la evolución del complejo de la enfermedad se correlaciona con la diversificación de sus genomas mitocondriales, lo que subraya su capacidad de adaptación a condiciones ambientales y agrícolas específicas (Arcila-Galvis et al., 2021).

En este contexto, la presente investigación incluye la exploración inicial de los extractos obtenidos de hojas de *R. floribunda* caracterizando sus propiedades fitoquímicas y antifúngicas mediante la identificación de sus metabolitos secundarios describiendo los métodos de extracción empleados. Asimismo, busca correlacionar estos compuestos con su potencial

bioactivo frente a *P. fijiensis*, el agente causal de la Sigatoka Negra. Los resultados podrían ofrecer una base preliminar para la realización de evaluaciones in vitro posteriores, que permitan dar perspectivas a futuro para el desarrollo de un fungicida natural, con posibilidades de integración en programas de *MIE*, según se confirmen su viabilidad y eficacia en otros estudios.

### CAPÍTULO 3: MARCO METODOLÓGICO

#### Introducción a la Metodología Utilizada

El presente estudio es de tipo exploratorio, descriptivo y experimental. Explora un tema poco estudiado en el contexto local, describe las propiedades químicas y biológicas de los extractos de *Ruellia floribunda* e identifica su relación con la actividad antifúngica contra *Pseudocercospora fijiensis*, agente causal de la Sigatoka Negra.



**Figura 6.** Flujograma del proceso de estudio.

### ***Alcance de la Investigación***

El presente estudio incluye la exploración inicial de los extractos de *R. floribunda*, caracterizando sus propiedades fitoquímicas y describiendo los métodos de extracción. También busca correlacionar los metabolitos secundarios identificados con su potencial antifúngico contra *P. fijiensis*, agente causal de la Sigatoka Negra.

### ***Ubicación***

La obtención de los extractos vegetales y su caracterización se realizó en el laboratorio de Biología en la Universidad Tecnológica Ecotec, campus Samborondón.

### ***Variables del Estudio***

En el presente estudio, se determinaron las variables independientes y dependientes que facilitarán la evaluación del potencial antifúngico de los extractos de *R. floribunda* contra *P. fijiensis*, agente causal de la Sigatoka Negra.

**Tabla 4.** Variables Independientes y Dependientes del Estudio

<b>TIPO DE VARIABLE</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
Independientes	Método de Extracción: Maceración y Extracción Soxhlet Tipo de Solvente Utilizado: Hidroalcohólico (80% etanol y 20% agua destilada) y Metanol Absoluto (100% metanol)
Dependientes	Perfil Fitoquímico de los Extractos: Presencia y concentración de metabolitos secundarios (alcaloides, cumarinas, flavonoides, etc.) Actividad Antifúngica de los Extractos: Eficacia en la inhibición del crecimiento del patógeno

**Nota:** Elaborado por autor (2024).

### **Objetivo 1: Obtención de Extractos**

El presente apartado describe el proceso de obtención de los extractos de hojas en *R. floribunda*, según lo establecido en el objetivo específico 1. Para este procedimiento, se utilizaron dos métodos de extracción sólido – líquido, la maceración y la extracción mediante Soxhlet empleando solventes de diferentes polaridades, como mezclas de hidroalcoholes y metanoles.

#### **Materiales**

**Tabla 5. Materiales Utilizados Para la Obtención de Extractos de *R. floribunda*.**

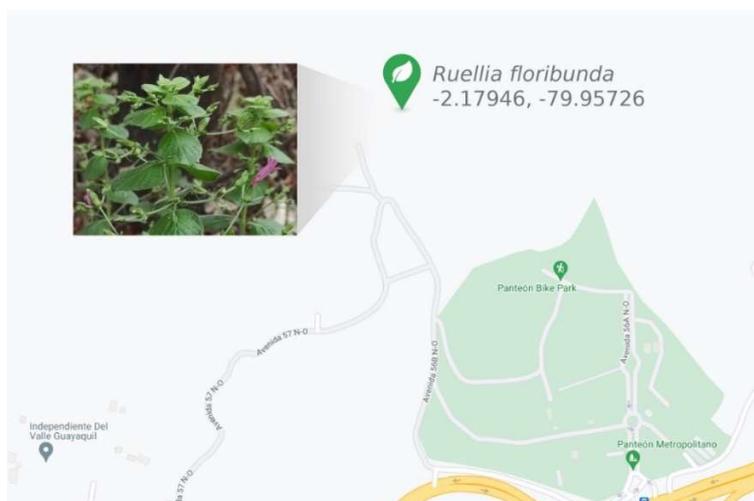
<b>CATEGORÍA</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
Material Vegetal	Hojas de <i>R. floribunda</i>
Equipo de Preparación	Molino Horno de aire forzado
Materiales de Almacenamiento	Frascos de vidrio oscuros Refrigerador
Solventes Utilizados	Hidroalcohólico (80 etanol 20 agua destilada) Metanol Absoluto (100% metanol)
Instrumentos de Extracción	Matraces, papel de filtro, rotavapor
Instrumentos de Medición	Balanza analítica

**Nota:** Elaborado por autor (2024).

#### **Metodología**

##### ***Recolección de las Hojas de *Ruellia floribunda****

Se llevó a cabo en época seca durante el mes de octubre en el bosque tropical seco, área Panteón metropolitano, ubicado en la provincia de Guayas.



**Figura 7.** Ubicación de especie en estudio. Elaborado por autor (2024).

Se procedió a la recolección durante las primeras horas de la mañana (6:00-9:00 AM) para minimizar la pérdida de metabolitos volátiles, seleccionando hojas de la especie manualmente por su madurez y estado óptimo. Posteriormente a la recolección, se transportaron al laboratorio de Ecotec, en bolsas de papel para su posterior secado y procesamiento.

### **Secado y Procesamiento Preliminar**

Las hojas de *R. floribunda* recolectadas se secaron en un horno de aire forzado a 40°C durante 48 horas para asegurar la preservación de los compuestos bioactivos, revisando el proceso cada 12 horas. Tras el secado, las hojas fueron trituradas en un molino hasta obtener un polvo fino y luego almacenado en frascos oscuros y herméticos para evitar la exposición a la luz y la humedad, lo que podría degradar los metabolitos presentes.

### **Maceración**

Para el proceso de extracción sólido-líquido por maceración, se utilizaron hojas secas de *R. floribunda* y dos solventes: hidroalcoholes (80% etanol y 20% agua destilada) y metanoles (100% metanol). Para cada solvente, se pesaron 50 gramos del polvo fino y se mezclaron con

500 mL de solvente en un frasco de reactivo. La mezcla fue agitada manualmente cada 4 horas y se dejó reposar durante 48 horas a temperatura ambiente.

Posteriormente, el extracto fue filtrado usando papel de filtro para separar los sólidos residuales y concentrado mediante evaporación a baja presión con un rotavapor, obteniendo así un extracto crudo. Finalmente, el extracto fue almacenado en un refrigerador a 4°C para su conservación hasta el momento de su análisis.

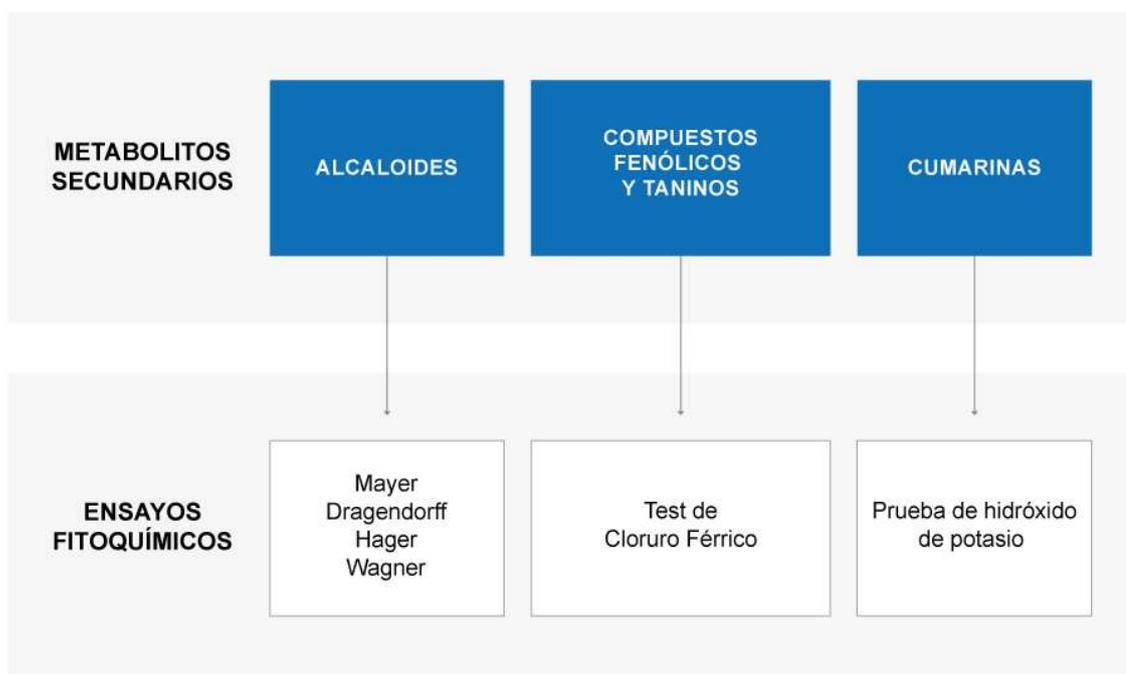
### ***Extracción Soxhlet***

Para el proceso de extracción sólido-líquido en un equipo Soxhlet, se utilizaron polvo fino de hojas secas de *R. floribunda* y dos solventes: hidroalcoholes (80% etanol y 20% agua destilada) y metanoles (100% metanol). Para cada solvente, se pesaron 50 gramos del polvo, los cuales fueron colocados en un cartucho de celulosa dentro del extractor Soxhlet. El solvente se añadió al matraz de extracción en un volumen de 500 ml y el sistema fue calentado a una temperatura controlada que mantuviera el solvente en ebullición.

Durante el proceso, el solvente condensado pasó repetidamente por el material vegetal, disolviendo los compuestos bioactivos y acumulándose en el matraz de destilación. El proceso se continuó hasta obtener un extracto claro (aproximadamente 6-8 horas por solvente). Posteriormente, el extracto se concentró mediante evaporación a baja presión utilizando un rotavapor. Finalmente, el extracto se almacenó en un refrigerador a 4°C para su conservación hasta su posterior análisis.

### ***Objetivo 2: Identificación Cualitativa de Metabolitos***

El presente apartado describe el proceso de identificación cualitativa de metabolitos secundarios en los extractos de *R. floribunda*, según lo establecido en el objetivo específico 2. Para lo cual, se usaron los extractos hidroalcohólicos y metanólicos de manera independiente en el tamizaje fitoquímico.



**Figura 8.** Diagrama de metabolitos y ensayos realizados en el tamizaje fitoquímico.

### Identificación de Alcaloides

#### Materiales

**Tabla 6.** Recursos Utilizados Para la Detección de Alcaloides

ENSAYOS	MATERIALES
Reacción de Mayer ( $M_{ay}$ ) <sup>1</sup>	Cloruro mercúrico e yoduro de potasio
	Tubo de ensayo (10 ml)
	Extracto hidroalcohólico o metanol “acidulado”
Reactivo de Dragendorff ( $D_{ra}$ ) <sup>2</sup>	Yoduro de bismuto y nitrato de potasio
	Tubo de ensayo (10 ml)
	Extracto hidroalcohólico o metanol “acidulado”
Reacción de Hager ( $H_{ag}$ ) <sup>3</sup>	Ácido pícrico
	Tubo de ensayo (10 ml)
	Extracto hidroalcohólico o metanol “acidulado”

**Tabla 6.** Continuación

ENSAYOS	MATERIALES
Reacción de Wagner ( $W_{ag}$ ) <sup>4</sup>	Yodo en yoduro de potasio
	Tubo de ensayo (10 ml)
	Extracto hidroalcohólico o metanol “acidulado”

**Nota:** Los ensayos y materiales fueron seleccionados para detectar alcaloides en extractos hidroalcohólicos y metanol en hojas de *R. floribunda*, utilizando métodos estándar en estudios fitoquímicos previos ( $M_{ay}$ )<sup>1</sup> ( $W_{ag}$ )<sup>4</sup> (Valencia et al., 2020); ( $D_{ra}$ )<sup>2</sup> ( $H_{ag}$ )<sup>3</sup> (Shaikh y Patil, 2020). Elaborado por autor (2024).

### **Metodología**

Previo los ensayos de pruebas presuntivas a cada extracto hidroalcohólico y metanólico de hojas en *R. floribunda* se le realizó una acidulación inicial añadiendo 2 a 3 gotas de ácido clorhídrico HCl o ácido sulfúrico  $H_2SO_4$  y calentando a 60°C por 3 min. Este paso facilitó la evaluación de alcaloides en las reacciones fitoquímicas posteriores.

Para la evaluación de alcaloides en extractos hidroalcohólicos y metanólicos de hojas de *R. floribunda*, se realizaron 4 pruebas.

En la reacción ( $M_{ay}$ )<sup>1</sup>, se mezcló el extracto acidulado con cloruro mercúrico  $HgCl_2$  e yoduro de potasio  $I_2K$ . Se reportó como positivo cuando se produjo un precipitado. En la reacción ( $D_{ra}$ )<sup>2</sup>, se usaron yoduro de bismuto  $BiI_3$  y nitrato de potasio  $KNO_3$ . Se reportó como positivo cuando se formó un precipitado de color rojo, naranja o marrón. En la reacción ( $H_{ag}$ )<sup>3</sup> se empleó ácido pícrico  $C_6H_2(NO_2)_3OH$ . Se reportó como positivo cuando se formó un precipitado amorfo. Finalmente, en la reacción ( $W_{ag}$ )<sup>4</sup>, se combinó el extracto con diyodo ( $I_2$ ) en yoduro de potasio (KI). Se reportó como positivo cuando se formó un precipitado floculento marrón.

## Identificación de Compuestos Fenólicos y Taninos

### Materiales

**Tabla 7.** Recursos Utilizados Para la Detección de Compuestos Fenólicos y Taninos

ENSAYOS	MATERIALES
Test de Cloruro Férrico (C) <sup>1</sup>	Cloruro férrico (5%) Extracto vegetal “hidroalcohólico o metanol” Tubo de ensayo (10 mL)

**Nota:** Los ensayos y materiales fueron seleccionados para detectar alcaloides en extractos hidroalcohólicos y metanol en hojas de *R. floribunda*, utilizando métodos estándar en estudios fitoquímicos previos. (C)<sup>1</sup> (Shaikh y Patil, 2020). Elaborado por el autor (2024).

### Metodología

Para la evaluación de fenoles, taninos en extractos hidroalcohólicos y metanólicos de *R. floribunda*, se empleó 1 prueba. En la prueba (C)<sup>1</sup>, se colocaron 50 mg del extracto en un tubo de ensayo y se añadieron gotas de cloruro férrico (FeCl<sub>3</sub>) al 5%. El cambio de color a verde oscuro sirvió como señal de la presencia de fenoles en los extractos evaluados.

## Identificación de Cumarinas

### Materiales

**Tabla 8.** Recursos Utilizados Para la Detección de Cumarinas

ENSAYOS	MATERIALES
Prueba de hidróxido de potasio (K) <sup>1</sup>	Hidróxido de potasio KOH al 5% Tubo de ensayo (10 mL) Extracto vegetal “hidroalcohólico o metanólico”

**Nota:** Las pruebas y cantidades fueron seleccionadas para la detección de cumarinas en los extractos de *R. floribunda*. (K)<sup>1</sup> (Valencia et al., 2020). Elaborado por el autor (2024).

### **Metodología**

Para la evaluación de cumarinas en extractos hidroalcohólicos y metanólicos de hojas de *R. floribunda*, se realizó 1 prueba. En la Prueba de (K)<sup>1</sup>, se añadieron 3 gotas de KOH al 5% al extracto. El cambio de color de fuerte a tenue de rojo a amarillo confirmó la presencia de cumarinas, en los extractos evaluados.

### **Objetivo 3: Caracterización Fitoquímica y Antifúngica**

El presente apartado describe el proceso de caracterización de los metabolitos identificados en el tamizaje fitoquímico realizado en el objetivo específico 2 a los extractos de *R. floribunda* en base a su potencial fungistático reportado en la literatura científica.

### **Materiales**

**Tabla 9.** Recursos Utilizados Para la Caracterización se Metabolitos Secundarios.

<b>CATEGORÍA</b>	<b>MATERIAL</b>
Bases de datos	Scopus, ScienceDirect, Springer, PubMed, Google Scholar
Software	Mendeley, Microsoft Word, Software de análisis de patrones
Instrumentos y equipos	Computadora con acceso a internet
Publicaciones científicas	Libros y capítulos de literatura científica

**Nota:** Elaborado por el autor (2024).

### **Metodología**

Para la caracterización se realizó una búsqueda dirigida a bases de datos científicas entre ellas Scopus, ScienceDirect, Springer, PubMed. utilizando términos clave como "actividad antifúngica", "metabolitos secundarios", "flavonoides", "terpenos", "alcaloides", y "*Pseudocercospora fijiensis*" seleccionando artículos relevantes de los últimos 4 años que documenten la actividad antifúngica de metabolitos presentes en plantas con propiedades similares a *R. floribunda*.

## CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Resultados 1: Obtención de Extractos**

A continuación, la tabla 10 presenta los resultados obtenidos con los diferentes solventes utilizados.

**Tabla 10.** *Propiedades Organolépticas y Volumen Final de los Extractos de R. floribunda.*

ME	S	P (%)	MV (g)	VS (mL)	VF $\bar{X}$ (mL)	C
Maceración	Etanol:Agua	80:20	50	500	400	Verde oscuro
	Metanol	100				
Soxhlet	Etanol:Agua	80:20	50	500	400	Verde claro
	Metanol	100				

**Nota:** ME= Método de extracción, S= Solvente, P= Proporción de Solvente, MV= Material Vegetal, VS= Volumen del solvente, VF= Volumen final promedio, C= Color. Elaborado por autor (2024).

Los extractos se concentraron en promedio a un volumen final de 400 mL en ambos métodos presentando diferencias observables en color y consistencia. En este estudio, la maceración produjo un extracto de color verde oscuro homogéneo con ligera opacidad, lo que sugirió la presencia de una alta concentración de compuestos solubles. Por otro lado, la extracción mediante Soxhlet mostró un color verde claro y una textura líquida uniforme, sin presencia de sedimentos. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos que indican que la composición y propiedades de los extractos vegetales varían según el solvente y el método (Balciñe et al., 2005) además de atribuirse a las diferencias en temperaturas, tamaño de partículas y tiempo de exposición (Cuan et al., 2024).

## Resultados 2: Identificación Cualitativa de Metabolitos

A continuación, la Tabla 11 presenta los ensayos realizados y los resultados obtenidos.

**Tabla 11.** Resultados en los Ensayos Utilizados Para la Identificación de Metabolitos.

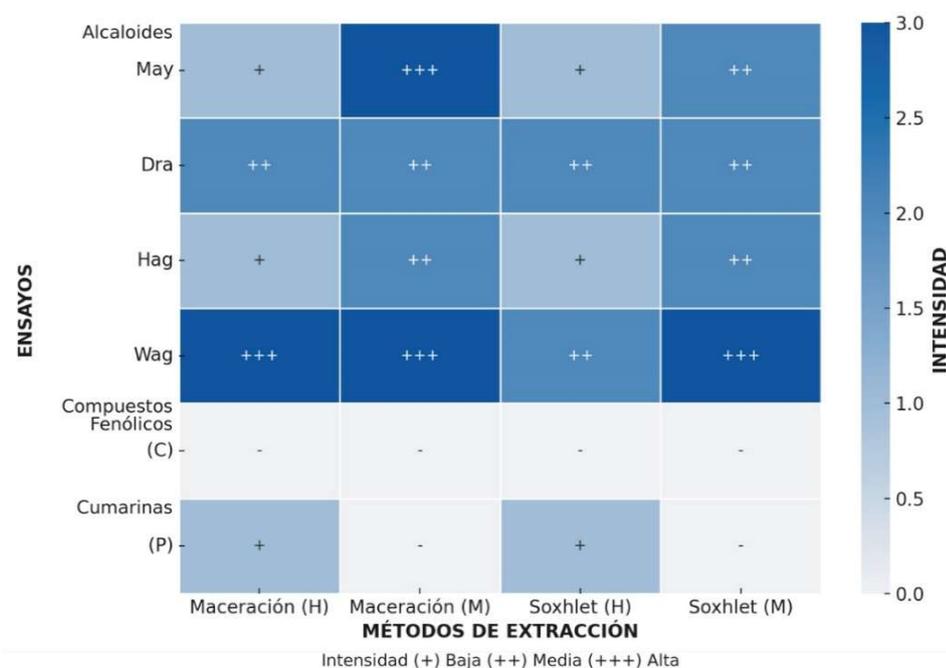
METABOLITO	ENSAYO	CONTENIDO EN HOJAS			
		MACERACIÓN		SOXHLET	
		H	M	H	M
Alcaloides	Reacción de Mayer (M <sub>ay</sub> )	+	+++	+	++
	Reacción de Dragendorff (D <sub>ra</sub> )	++	++	++	++
	Reacción de Hager (Hag)	+	++	+	++
	Reacción de Wagner (W <sub>ag</sub> )	+++	+++	++	+++
Compuestos fenólicos	Test de Cloruro Férrico (C)	-	-	-	-
Cumarinas	Prueba de hidróxido de potasio (P)	+	-	+	-

**Nota:** Intensidad (+) Baja, (++) Media, (+++) Alta, H: Hidroalcoholes, M: Metanoles. Elaborado por autor (2024).

Los metabolitos secundarios identificados en el tamizaje fitoquímico preliminar en hojas de *Ruellia floribunda* incluyen alcaloides y cumarinas en diferentes valoraciones lo que coincide con (Helou y Espin, 2023). De acuerdo a Rendón et al. (2018) *R. floribunda* posee además una presencia significativa (+++) de flavonoides, fenoles/taninos, saponinas, terpenoides y esteroides.

En relación a los solventes usados, los resultados indican que el metanol (M) es más eficaz que los hidroalcohólicos (H) para la extracción de *alcaloides*, especialmente cuando se utiliza el método de maceración presentando las mayores concentraciones (+++). Esto se alinea

con estudios previos en esta especie (Helou et al., 2023) y podría atribuirse a la mayor polaridad del (M), que facilitó la solubilización de estos metabolitos presentes en *R. floribunda*.



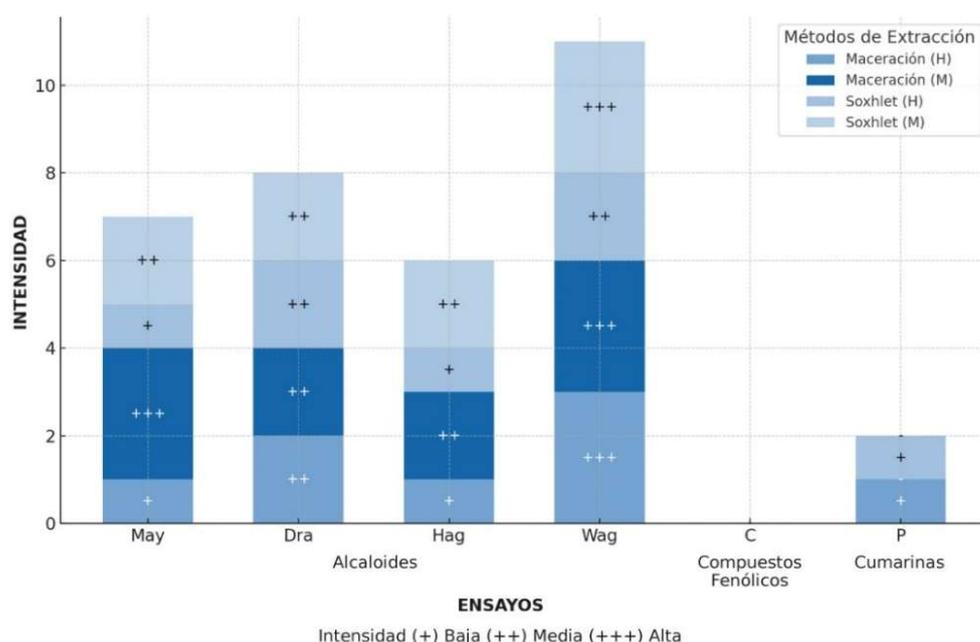
**Figura 9.** Intensidad del metabolito en función del método de extracción.

Estudios previos han demostrado que solventes como el metanol son más eficientes, obteniendo el mayor rendimiento de extracción (33,2%) y los niveles más altos de alcaloides, resaltando su eficacia para la recuperación de compuestos bioactivos clave (Truong et al., 2019).

Por otra parte, la ausencia de cumarinas en los extractos metanólicos (M) con reacciones positivas mínimas en los extractos hidroalcohólicos (H) obtenidos en los ensayos sugieren que la metodología podría ser inadecuada para su extracción. Las cumarinas son conocidas por su sensibilidad al calor, con una temperatura de fusión de 69 a 73 °C lo que pudo conducir a su volatilización durante procesos de extracción prolongado a temperaturas elevadas en métodos como la extracción obtenida por Soxhlet (Aguayo-Rojas et al., 2024). De acuerdo a Oliveros-Bastidas et al. (2011), el método que ha logrado una extracción más eficiente de este metabolito

es el ultrasonido usando como solvente una mezcla de etanol:agua 1:1, durante 2 h, a temperatura de laboratorio ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

Así también, la ausencia de compuestos fenólicos detectables en todos los extractos sugiere que *R. floribunda* podría tener bajas concentraciones de estos metabolitos en sus hojas. Aunque, es importante mencionar que se requieran más ensayos y valoraciones con otros solventes o métodos de extracción diferentes para aislar estos compuestos debido a que otros autores han reportado su presencia (++, +++) (Rendón et al., 2018). Estudios sugieren que los métodos alternativos, como extracción asistida por ultrasonido, podrían ser más efectivos para la obtención de compuestos fenólicos y posteriores valoraciones (Corona-Jiménez et al., 2016). Así mismo, una revisión sobre los parámetros de extracción de polifenoles indica que la variación de frecuencia, la potencia y el tiempo de extracción resultan factores críticos para la recuperación eficiente de estos compuestos (Ramón y Gil-Garzón, 2021).

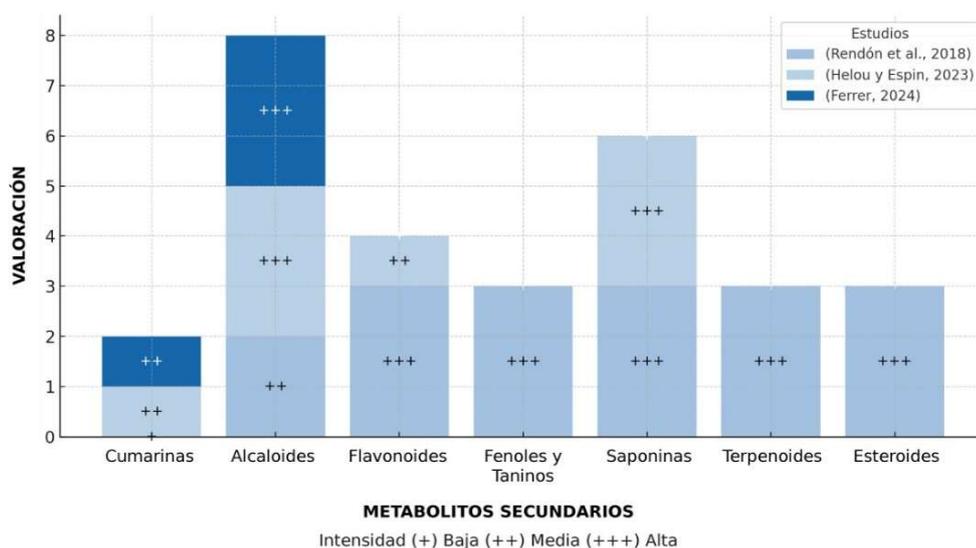


**Figura 10.** Intensidad de los metabolitos en función de los ensayos practicados.

En la comparación de los métodos de extracción sólido – líquido usados previo al análisis fitoquímico preliminar, los resultados indican que el método de maceración con metanol mostró una mayor eficiencia en la extracción de alcaloides, como lo indican las reacciones (+++) especialmente con los reactivos de  $M_{ay}$  y  $W_{ag}$ . Esto puede deberse al contacto prolongado entre el solvente y el material vegetal, lo que maximiza la disolución de alcaloides en comparación con métodos más agresivos y eficaces en ensayos específicos como el Soxhlet, aunque con menor consistencia (Cuan et al., 2024). Sin embargo, para las cumarinas, la maceración con hidroalcoholes fue más efectiva, posiblemente debido a la menor exposición al calor, preservando así la integridad de estos compuestos sensibles (Aguayo-Rojas et al., 2024).

### Resultados 3: Caracterización Fitoquímica y Antifúngica

A continuación, la figura 6 presenta los resultados obtenidos según fuentes propias y relacionadas (Helou et al., 2023; Rendón et al., 2018).



**Figura 11.** Comparación de la valoración de metabolitos según diferentes estudios.

Los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico parcial de este estudio realizados en el objetivo 2, se potenciaron mediante la adición de los alcanzados por otros autores para su

posterior análisis. Esta caracterización fitoquímica, aunque aún exploratoria, muestra también la alta intensidad (+++) de flavonoides, fenoles, taninos, saponinas, terpenoides y esteroides en *R. floribunda* reportada por otras investigaciones.

En relación con estos resultados, los metabolitos identificados en el perfil fitoquímico de esta especie presentan actividad antifúngica ampliamente documentada en la literatura científica.

**Tabla 12.** Caracterización Antifúngica de los Metabolitos en *R. floribunda*.

METABOLITOS	ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA	REFERENCIA
Compuestos fenólicos, flavonoides y terpenoides	Los extractos de hojas de <i>Zataria multiflora</i> mostraron actividad antifúngica con varias flavonas O-metiladas, flavononas y diterpenoides fenólicos como candidatos prometedores para fungicidas naturales.	(Karimi et al., 2022)
Terpenoides, terpinen-4-ol, el 1,8-cineol, el limoneno, el p-cimeno y el $\alpha$ -terpineno	<i>Melaleuca alternifolia</i> en <i>P. fijiensis</i> causa interrupción la membrana y pared celular alterando el proceso de osmosis resultando en su ruptura lo que conduce a la fuga de su contenido y posterior muerte celular.	(Reuveni et al., 2020)
Flavonoides y fenoles	<i>Azadirachta indica</i> y <i>Capsicum annum</i> demostraron una eficacia comparable al fungicida sintético difenoconazol, reduciendo la severidad de la Sigatoka Negra en más del 65%	(Kumakech et al., 2022)
Flavonoides, taninos, terpenos, saponinas, polifenoles, eugenol, alcaloides, quinonas	<i>Piper crocatum</i> posee una variedad de compuestos bioactivos con actividad antifúngica significativa. Su mecanismo de acción principal es la inhibición de la lanosterol 14 $\alpha$ -desmetilasa (CYP51), lo que afecta la síntesis de ergosterol y, por ende, la viabilidad de las células fúngicas	(Siswina et al., 2022)

**Tabla 11.** Continuación

METABOLITOS	ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA	REFERENCIA
Flavonoides, especialmente kaempferol y quercetina	La flavanona 3-hidroxilasa alivia el estrés por tizón bacteriano en arroz mediante la sobreacumulación de flavonoides antioxidantes y la inducción de genes y hormonas de defensa.	(Jan et al., 2021)
Fenoles, flavonoides, saponinas, terpenos y taninos en los extractos de ambas especies	Los extractos de hojas de <i>A. berlandieri</i> y <i>A. rigidula</i> contienen componentes bioactivos con propiedades medicinales. Los resultados sugieren que los extractos de hojas de <i>A. rigidula</i> podrían servir como fuente de nuevos agentes antimicrobianos y antioxidantes, proporcionando una base para futuras investigaciones.	(Cavazos et al., 2021).
Alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides, glucósidos, esteroides y terpenoides	Los extractos de <i>Ocimum sanctum</i> y <i>Aloe barbandensis</i> Mill contienen diversos metabolitos secundarios que muestran actividad antifúngica contra <i>Aspergillus niger</i> y <i>Sclerotium rolfsii</i> .	(Chinche et al., 2020)
Alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas	Los extractos etanólicos de <i>Piper guineense</i> y <i>Aframomum melegueta</i> exhiben una significativa actividad antifúngica contra <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Penicillium</i> sp., sugiriendo su potencial como agentes naturales en el control de enfermedades postcosecha en pepinos.	(Akpan et al., 2024)

**Nota:** Elaborado por autor (2024).

La actividad antifúngica en especies con alto contenido de flavonoides 8.2% y fenoles 9.3%, contra *Pseudocercospora fijiensis* el agente causal de la Sigatoka Negra, en relación a otras con niveles relativamente bajos (Kumakech et al., 2022), abre una perspectiva interesante para considerar el potencial de *Ruellia floribunda*. De manera similar la acción de terpenoides como terpinen-4-ol, el 1,8-cineol, el limoneno, el p-cimeno y el  $\alpha$ -terpineno han demostrado eficacia y actividad curativa en las etapas 1 2 3 y 4 restringiendo el potencial de este patógeno

para infectar material vegetal (Reuveni et al., 2020). Por otra parte, si bien el hallazgo de las fitoanticipinas por Cruz-Cruz et al. (2010), una saponina esteroidea relacionada con actividad antifúngica en *M. acuminata* contra *P. fijiensis* destaca el potencial de estos metabolitos como una de las primeras barreras químicas que encuentra el patógeno durante su interacción con el huésped, también sugiere la posible sinergia del amplio perfil fitoquímico de *R. floribunda*. Este contexto, refuerza el valor agronómico de la especie como diana potencial. Sin embargo, se requiere la futura validación experimental de sus compuestos bioactivos en condiciones in vitro e in planta para determinar si pueden alcanzar eficacias comparables al de otros controles convencionales y determinar su posible pertinencia en aplicaciones de MIE.

Estudios previos reportados en la revisión sistemática adjunta en la tabla 12 destacan el potencial del género *Ruellia* como una fuente prometedora para la posible identificación de metabolitos constituyentes en sus extractos, complementando esta línea de investigación relacionada al potencial antifúngico de la especie *R. floribunda*.

**Tabla 13.** Revisión de Actividad Antifúngica Reportada en la Literatura Científica.

ESPECIE	METABOLITOS	ACTIVIDAD REPORTADA
<i>Ruellia tuberosa</i>	Alcaloides, triterpenoides, taninos, glucósidos, saponinas, esteroides, ligninas y flavonoides	Actividad antifúngica contra <i>Pycularia grisea</i> el tizón del arroz (Rtu) <sup>1</sup>
		Insecticida con una tasa de mortalidad del 80% de <i>Tribolium castaneum</i> (Rtu) <sup>2</sup>
		Actividad antifúngica contra <i>Fusarium</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp, <i>Mucor</i> sp y <i>Penicillium</i> (Rtu) <sup>3</sup>
<i>Ruellia patula</i>	7-hydroxy-4-methylcoumarin, dicoumarol, luteolin, hispidulin, vanilloside	Actividad antifúngica contra <i>Aspergillus niger</i> hongos fitopatógeno en cultivos agrícolas (Rpa) <sup>1</sup>

**Tabla 12.** Continuación

ESPECIE	METABOLITOS	ACTIVIDAD REPORTADA
<i>Ruellia nudiflora</i>	Fenoles flavonoides	y Actividad antifúngica contra <i>Aspergillus flavus</i> (67%) y <i>Aspergillus niger</i> (57%) hongos fitopatógenos en cultivos agrícolas <sup>(Rnu)<sup>1</sup></sup>

**Nota:** (Rtu)<sup>1</sup> (Durgeshlal et al., 2019); (Rtu)<sup>2</sup> (Kader et al., 2014); (Rtu)<sup>3</sup> (Cavazos et al., 2021; Vasantharaj, 2013); (Rpa)<sup>1</sup> (Ramadevi et al., 2016); (Rnu)<sup>1</sup> (Ullah et al., 2021). Elaborado por autor (2024).

## CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### Conclusiones

La metodología de extracción sólido-líquido aplicada permitió obtener extractos de *Ruellia floribunda* con diferentes perfiles fitoquímicos dependiendo del solvente utilizado, lo que evidencia la efectividad de los métodos de maceración y soxhlet para la recuperación de metabolitos bioactivos.

El tamizaje fitoquímico cualitativo preliminar identificó la presencia de alcaloides, cumarinas y compuestos fenólicos en los extractos de *R. floribunda*. Por otra parte, las diferencias en los perfiles fitoquímicos resultantes de los métodos y solventes utilizados resaltan la importancia de optimizar las condiciones de extracción para maximizar la obtención de compuestos bioactivos de interés en esta especie.

La revisión de literatura científica confirmó que los metabolitos secundarios identificados en *R. floribunda*, como flavonoides, fenoles, taninos, saponinas, terpenoides y esteroides, poseen actividad antifúngica documentada en estudios previos. Esto refuerza su valor como diana potencial para el control de *Pseudocercospora fijiensis*, el agente causal de la Sigatoka Negra, así como de otros patógenos en el sector agrícola. Por otra parte, aunque el género *Ruellia* demuestra diversas actividades bioactivas reportadas, se requiere una validación experimental más amplia de *R. floribunda* —incluyendo ensayos in vitro e in planta—; considerando que los resultados preliminares indican que esta especie podría constituir una alternativa de control de origen vegetal con perspectivas a futuro en su implementación en programas de MIE.

## Recomendaciones

Estandarizar los métodos de maceración y Soxhlet además de los parámetros como la proporción solvente:material, tiempo de extracción y temperatura, con el fin de optimizar la obtención de compuestos bioactivos y asegurar la reproducibilidad del proceso.

Explorar nuevas técnicas de extracción (como ultrasonido o microondas) y emplear otros solventes o mezclas con diferentes polaridades, con el fin de maximizar la recuperación de los metabolitos de interés y mejorar la sensibilidad del tamizaje fitoquímico.

Realizar ensayos in vitro con los extractos obtenidos frente a *P. fijiensis* para cuantificar su actividad antifúngica, e investigar posibles sinergias entre diferentes metabolitos a fin de desarrollar formulaciones más efectivas.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology*. Elsevier.
- Aguayo-Rojas, J., Mora-Rochín, S., Tovar-Jiménez, X., Navarro-Cortez, R. O., Valdez-Morales, M., y Ayala-Lujan, J. L. (2024). Compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y actividad antihipertensiva de membrillo (*Cydonia oblonga* Miller) cultivado en Zacatecas, México. *Polibotánica*, 0(57). <https://doi.org/10.18387/polibotanica.57.12>
- Aguilera Peña, R. (2022). Estrategias agroecológicas para una agricultura sostenible. *REVISTA CIENTÍFICA ECOCIENCIA*, 9, 138–150. <https://doi.org/10.21855/ecociencia.90.758>
- Aguirre, Z., Kvist, L. P., y Sánchez, y O. (2006). Bosques secos en Ecuador y su diversidad. *Botánica Económica de Los Andes Centrales*, 162–187. [https://www.researchgate.net/publication/228362343\\_Bosques\\_secos\\_en\\_Ecuador\\_y\\_su\\_diversidad](https://www.researchgate.net/publication/228362343_Bosques_secos_en_Ecuador_y_su_diversidad)
- Akpan, P. S., Umoren, E. O., William, E. I., y Ibuot, A. A. (2024). Assessing the antimicrobial activity of *Aframomum melegueta* and *Piper guineense* extract on pathogens of rot diseases of cucumber fruit. <https://doi.org/10.1101/2024.09.21.614230>
- Altamirano-Fernández, L., Castro-Bruno, E., Santa Cruz-López, C., Carrasco-Solano, F., Cruz-Silva, R., y Moreno-Mantilla, M. (2021). Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanolico de *Morinda citrifolia* (noni) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. *MEDICINA NATURISTA*, 15, 1576–3080.
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D., y Lightfoot, D. (2017). Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants*, 6(4), 42. <https://doi.org/10.3390/plants6040042>
- Aragón-Gómez, W. I., García-Velázquez, B. A., y Delgado-Guizar, C. S. (2024). *Sistema inmune innato vegetal*. [www.biociencias.unach.mx/ibciencias](http://www.biociencias.unach.mx/ibciencias)

- Arcila-Galvis, J. E., Arango, R. E., Torres-Bonilla, J. M., y Arias, T. (2021). The Mitochondrial Genome of a Plant Fungal Pathogen *Pseudocercospora fijiensis* (Mycosphaerellaceae), Comparative Analysis and Diversification Times of the Sigatoka Disease Complex Using Fossil Calibrated Phylogenies. *Life*, 11(3), 215. <https://doi.org/10.3390/life11030215>
- Ávalos, G. A., y Pérez-Urria, C. E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*, 2(3), 119–145.
- Balcinde, Y., Hung, B. R., Marrero, A., Tirado, S., Pérez, C., Falero, A., Martí, E., Águila, B., Fonseca, M., y Lightbourne, E. (2005). Comparación de diferentes métodos de extracción para la obtención de una fracción rica en fitosteroles a partir de la cachaza de caña de azúcar. *CENIC Ciencias Químicas*, 36, 6.
- BCE. (2024). *Evolución de la Balanza Comercial por Productos*. <https://contenido.bce.fin.ec/documentos/Estadisticas/SectorExterno/BalanzaPagos/balanzaComercial/ebc202402.pdf>
- Beltrame, A. B., Melchiorretto, B., Lone, A. B., y Rebelo, A. M. (2021). Prospecção de plantas bioativas no controle do complexo de sigatoka em bananeira. *Revista Em Agronegócio e Meio Ambiente*, 14(Supl. 1), 1–13. <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2021v14Supl.1.e8997>
- Ben Mrid, R., Benmrid, B., Hafsa, J., Boukcim, H., Sobeh, M., y Yasri, A. (2021). Secondary metabolites as biostimulant and bioprotectant agents: A review. *Science of The Total Environment*, 777, 146204. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146204>
- Bolouri, P., Salami, R., Kouhi, S., Kordi, M., Asgari Lajayer, B., Hadian, J., y Astatkie, T. (2022). Applications of Essential Oils and Plant Extracts in Different Industries. *Molecules*, 27(24), 8999. <https://doi.org/10.3390/molecules27248999>
- CAMAE. (2022, May 16). *Todo lo que debe saber un bananero para el control efectivo de Sigatoka Negra*. CAMAE Cámara Marítima Del Ecuador. <http://www.camae.org/sigatoka-negra/todo-lo-que-debe-saber-un-bananero-para-el-control-efectivo-de-sigatoka-negra/>

- Campo-Arana, R. O., Vélez-Leiton, S. M., y Barrera-Violeth, J. L. (2020, December 20). LA SIGATOKA NEGRA *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, EN LOS CULTIVOS DE PLÁTANO Y BANANO: UNA REVISIÓN. *Fitopatología Colombiana*, 44, 61–66. <https://www.researchgate.net/publication/350671395>
- Carlier, J., Robert, S., Roussel, V., Chilin-Charles, Y., Lubin-Adjanoh, N., Gilabert, A., y Abadie, C. (2021). Central American and Caribbean population history of the *Pseudocercospora fijiensis* fungus responsible for the latest worldwide pandemics on banana. *Fungal Genetics and Biology*, 148, 103528. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2021.103528>
- Carreón-Anguiano, K. G., Gómez-Tah, R., Pech-Balan, E., Ek-Hernández, G. E., De los Santos-Briones, C., Islas-Flores, I., y Canto-Canché, B. (2023). *Pseudocercospora fijiensis* Conidial Germination Is Dominated by Pathogenicity Factors and Effectors. *Journal of Fungi*, 9(10), 970. <https://doi.org/10.3390/jof9100970>
- Carvalho, R. da S., Silva, M. A. da, Borges, M. T. M. R., y Forti, V. A. (2024). Compounds identified in plant extracts applied to agriculture and seed treatment. *Ciência Rural*, 54(1). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20220424>
- Castillo, M. (2021). *Evaluación de la actividad antifúngica a partir de extractos de plantas nativas de la región de Mapimí, Durango*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro División De Ingeniería Departamento de Ciencias del Suelo.
- Cavazos, P., Gonzalez, D., Lanorio, J., y Ynalvez, R. (2021). Secondary metabolites, antibacterial and antioxidant properties of the leaf extracts of *Acacia rigidula* benth. and *Acacia berlandieri* benth. *SN Applied Sciences*, 3(5), 522. <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04513-8>
- Cerna-Chávez, E., Alejandro-Rojas, G., Ochoa-Fuentes, Y. M., Aguirre-Uribe, L., Landeros-Flores, J., y Hernández-Bautista, O. (2019). Evaluación in vitro de principios activos de origen botánico para el control de hongos fitopatógenos. *Scientia Fungorum*, 49, e1245. <https://doi.org/10.33885/sf.2019.49.1245>

- Chen, X., Guo, D., Gong, X., Wan, N., y Wu, Z. (2023). *Separation, Extraction and Purification of Natural Products from Plants* (X. Gong, Ed.). MDPI. <https://doi.org/10.3390/books978-3-0365-9015-8>
- Chinche, A. V., Gade, R. M., Shinde, A. N., Vairagade, M. T., y Kendhale, K. V. (2020). Fractionation of Secondary Metabolites from Tulsi (*Ocimum sanctum*) and Aloe Vera (*Aloe barbadensis* Mill.) and their Antifungal Activity against *Aspergillus niger* and *Sclerotium rolfsii*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(5), 445–452. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.905.050>
- Chong, P., Essoh, J. N., Arango Isaza, R. E., Keizer, P., Stergiopoulos, I., Seidl, M. F., Guzman, M., Sandoval, J., Verweij, P. E., Scalliet, G., Sierotzski, H., de Lapeyre de Bellaire, L., Crous, P. W., Carlier, J., Cros, S., Meijer, H. J. G., Peralta, E. L., y Kema, G. H. J. (2021). A world-wide analysis of reduced sensitivity to DMI fungicides in the banana pathogen *Pseudocercospora fijiensis*. *Pest Management Science*, 77(7), 3273–3288. <https://doi.org/10.1002/ps.6372>
- Chuo, S. C., Nasir, H. M., Mohd-Setapar, S. H., Mohamed, S. F., Ahmad, A., Wani, W. A., Muddassir, Mohd., y Alarifi, A. (2022). A Glimpse into the Extraction Methods of Active Compounds from Plants. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 52(4), 667–696. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1820851>
- CHURCHILL, A. C. L. (2011). *Mycosphaerella fijiensis* , the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. *Molecular Plant Pathology*, 12(4), 307–328. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00672.x>
- Clough, S. E., Jousset, A., Elphinstone, J. G., y Friman, V. (2022). Combining in vitro and in vivo screening to identify efficient *Pseudomonas* biocontrol strains against the phytopathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum*. *MicrobiologyOpen*, 11(2). <https://doi.org/10.1002/mbo3.1283>

- Colombo, E. M., Pizzatti, C., Kunova, A., Gardana, C., Saracchi, M., Cortesi, P., y Pasquali, M. (2019). Evaluation of in-vitro methods to select effective streptomycetes against toxigenic fusaria. *PeerJ*, 7, e6905. <https://doi.org/10.7717/peerj.6905>
- Corona-Jiménez, E., Martínez-Navarrete, N., Ruiz-Espinosa, H., Carranza-Concha, J., Km, Z.-G., Escondida, L., Zacatecas, Z. C. P., y 98160, M.-C. (. (2016, June 30). *ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION OF PHENOLICS COMPOUNDS FROM CHIA (Salvia hispanica L.) SEEDS AND THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE SEMILLAS DE CHIA (Salvia hispanica L.) Y SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE*. 50, 403–412.
- Cruz-Cruz, C. A., Ramírez-Tec, G., García-Sosa, K., Escalante-Erosa, F., Hill, L., Osbourn, A. E., y Peña-Rodríguez, L. M. (2010). Phytoanticipins from banana (*Musa acuminata* cv. Grande Naine) plants, with antifungal activity against *Mycosphaerella fijiensis*, the causal agent of black Sigatoka. *European Journal of Plant Pathology*, 126(4), 459–463. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9561-9>
- Cuan, D., Pitre, L., y Galván, D. (2024). Comparación de dos métodos de extracción para el análisis fitoquímico de extractos alcohólicos de hojas de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. *Revista Interdisciplinar de Estudios En Ciencias Básicas e Ingeniería*, 11, 1–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.5281/zenodo.12549588>
- Cui, Q., Du, R., Liu, M., y Rong, L. (2020). Lignans and Their Derivatives from Plants as Antivirals. *Molecules*, 25(1), 183. <https://doi.org/10.3390/molecules25010183>
- Deighton, F. C. (1976). Studies on *Cercospora* and allied genera. VI. *Pseudocercospora* Speg., *Pantospora* Cif., and *Cercoseptoria* Petr. *Mycological Papers*, 140, 1–168. <https://www.mycobank.org/details/19/1542>

- Dissanayake, M., Herath, H., Jayasekara, H. M., y Abeywickrame, P. D. (2023). Efficacy of Botanical Mixture and Fungicides to Combat Sigatoka Disease in Banana Cultivation. *Asian Journal of Mycology*, 6(2), 26–35. <https://doi.org/10.5943/ajom/6/2/2>
- Durgeshlal, C., Sahroj Khan, M., Prabhat, S. A., y Aaditya Prasad, Y. (2019). Antifungal Activity of Three Different Ethanolic Extract against Isolates from Diseased Rice Plant. *Journal of Analytical Techniques and Research*, 01(01). <https://doi.org/10.26502/jatri.007>
- El Aziz, M. M. A., Ashour, A. S., y Melad, A. S. G. (2019). A review on saponins from medicinal plants: chemistry, isolation, and determination. *Journal of Nanomedicine Research*, 8(1), 6–12. <https://doi.org/10.15406/jnmr.2019.08.00199>
- Esguera, J. G., Balendres, M. A., y Paguntalan, D. P. (2024). Overview of the *Sigatoka* leaf spot complex in banana and its current management. *Tropical Plants*, 3(1), 0–0. <https://doi.org/10.48130/tp-0024-0001>
- FAO. (2016). *Ecuador's banana sector under climate change: An economic and biophysical assessment to promote a sustainable and climate-compatible strategy*. FAO. <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/51de76b0-742a-4a7e-a67a-eda68d4284f7/content>
- FAO. (2021). *Banana market review – Preliminary results 2020*. <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/335d6aa0-cec3-4350-9d78-6b230ffd3859/content>
- FAO. (2023). El estado mundial de la agricultura y la alimentación 2023. Revelar el verdadero costo de los alimentos para transformar los sistemas agroalimentarios. In *El estado mundial de la agricultura y la alimentación 2023*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc7724es>
- Friesen, T. L. (2016). Combating the Sigatoka Disease Complex on Banana. *PLOS Genetics*, 12(8), e1006234. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006234>

- Gianoni, C. (2021). *La I+D y la transformación del sistema alimentario: una contribución del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) a la Cumbre sobre los Sistemas Alimentarios 2021 de las Naciones Unidas*. IICA. <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/18882/BVE21107996e.pdf?sequence=1>
- Godlewska, K., Ronga, D., y Michalak, I. (2021). Plant extracts - importance in sustainable agriculture. *Italian Journal of Agronomy*, 16(2). <https://doi.org/10.4081/ija.2021.1851>
- Gwiazdowski, R., Kubiak, K., Juś, K., Marchwińska, K., y Gwiazdowska, D. (2023). The Biocontrol of Plant Pathogenic Fungi by Selected Lactic Acid Bacteria: From Laboratory to Field Study. *Agriculture*, 14(1), 61. <https://doi.org/10.3390/agriculture14010061>
- Hawksworth, D. L., Crous, P. W., Redhead, S. A., Reynolds, D. R., Samson, R. A., Seifert, K. A., Taylor, J. W., Wingfield, M. J., Abaci, Ö., Aime, C., Asan, A., Bai, F.-Y., de Beer, Z. W., Begerow, D., Berikten, D., Boekhout, T., Buchanan, P. K., Burgess, T., Buzina, W., ... Zhang, N. (2011). The Amsterdam Declaration on Fungal Nomenclature. *IMA Fungus*, 2(1), 105–111. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2011.02.01.14>
- Helou, A., y Espin, D. (2023). *HERBORIZACIÓN DE ESPECIES VEGETALES DEL CAMPUS MARÍA AUXILIADORA DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE GUAYAQUIL Y VALIDACIÓN MEDICINAL DE UNA ESPECIE REPRESENTATIVA DEL BOSQUE SECO TROPICAL*. Universidad Politécnica Salesiana.
- INEC. (2024). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/2023/Boletin\\_tecnico\\_ESPAC\\_2023.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/2023/Boletin_tecnico_ESPAC_2023.pdf)
- Iqbal, Z., Iqbal, M. S., Hashem, A., Abd\_Allah, E. F., y Ansari, M. I. (2021). Plant Defense Responses to Biotic Stress and Its Interplay With Fluctuating Dark/Light Conditions. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.631810>

- Jagtap, T. D., Shirsat, R. P., y Koche, D. K. (2022). Updates on Ethnomedicinal Uses and Biological Activities of Genus *Ruellia*. Available Online on *Www.Ijppr.Com International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 14(3), 19–23. [www.ijppr.com](http://www.ijppr.com)
- Jan, R., Aaqil Khan, M., Asaf, S., Lubna, Park, J.-R., Lee, I.-J., y Kim, K.-M. (2021). Flavonone 3-hydroxylase Relieves Bacterial Leaf Blight Stress in Rice via Overaccumulation of Antioxidant Flavonoids and Induction of Defense Genes and Hormones. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 6152. <https://doi.org/10.3390/ijms22116152>
- Jha, A. K., y Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science y Technology*, 119, 579–591. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>
- Kader, M. A., Parvin, S., Chowduri, M. A. U., y Haque, M. E. (2014). Antibacterial, antifungal and insecticidal activities of *Ruellia tuberosa* (L.) root extract. *Journal of Bio-Science*, 20, 91–97. <https://doi.org/10.3329/jbs.v20i0.17720>
- Karamura, E. B., y Karamura, D. A. (1995). Banana morphology — part II: the aerial shoot. In *Bananas and Plantains* (pp. 190–205). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-0737-2\\_8](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0737-2_8)
- Karimi, A., Meiners, T., y Böttcher, C. (2022). Metabolite Profiling and Bioassay-Guided Fractionation of *Zataria multiflora* Boiss. Hydroethanolic Leaf Extracts for Identification of Broad-Spectrum Pre and Postharvest Antifungal Agents. *Molecules*, 27(24), 8903. <https://doi.org/10.3390/molecules27248903>
- Kondratev, N., Denton-Giles, M., Bradshaw, R. E., Cox, M. P., y Dijkwel, P. P. (2020). *Camellia* Plant Resistance and Susceptibility to Petal Blight Disease Are Defined by the Timing of Defense Responses. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, 33(7), 982–995. <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-19-0304-R>

- Koseoglou, E., van der Wolf, J. M., Visser, R. G. F., y Bai, Y. (2022). Susceptibility reversed: modified plant susceptibility genes for resistance to bacteria. *Trends in Plant Science*, 27(1), 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.07.018>
- Krishnan, R., Singh, S. P., y Upadhyay, S. K. (2021). An Introduction to Plant Biodiversity and Bioprospecting. In *Bioprospecting of Plant Biodiversity for Industrial Molecules* (pp. 1–13). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119718017.ch1>
- Kumakech, A., Jørgensen, H. J. L., Collinge, D. B., Edema, R., y Okori, P. (2022). Plant extracts as potential control agents of Black Sigatoka in banana. *Journal of Plant Pathology*, 104(4), 1303–1314. <https://doi.org/10.1007/s42161-022-01211-1>
- León-Serrano, L. A., Matailo-Pinta, A. M., Romero-Ramón, A. A., y Portalanza-Chavarría, C. A. (2020). Ecuador: producción de banano, café y cacao por zonas y su impacto económico 2013-2016. *Revista Científica UISRAEL*, 7(3), 97–114. <https://doi.org/10.35290/rcui.v7n3.2020.324>
- Macías, R. (2015). *CATÁLOGO DE VIDA SILVESTRE*.
- Manzo-Sánchez, G., Guzmán González, S., Rodríguez García, C. M., James, A., y Orozco, M. (2005, January). La biología de *Mycosphaerella fijiensis* y su interacción con Musa spp. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23, 87–96. <https://www.researchgate.net/publication/233401158>
- Manzo-Sánchez, G., y Orozco-Santos, M. (2012). Análisis de la Sensibilidad in vitro de *Mycosphaerella fijiensis*, Agente Causal de la Sigatoka Negra del Banano a los Fungicidas Benomyl, Propiconazol y Azoxistrobin. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 30, 81–85. <https://www.researchgate.net/publication/235998310>
- Mesa, V. A. M., Marín, P., Ocampo, O., Calle, J., y Monsalve, Z. (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 45, 23–30.
- Montes de Oca, E. (2019). *Toxicidad de contaminantes emergentes sobre microorganismos: estudio de la concentración inhibitoria mínima*.

- Morchid, A., El Alami, R., Raezah, A. A., y Sabbar, Y. (2024). Applications of internet of things (IoT) and sensors technology to increase food security and agricultural Sustainability: Benefits and challenges. *Ain Shams Engineering Journal*, 15(3), 102509. <https://doi.org/10.1016/j.asej.2023.102509>
- Morelet, M. (1969). Micromycetes du Var et d'ailleurs (2<sup>rne</sup> Note). *Annales de La Societe Des Sciences Naturelles et d'Archeologie de Toulon et Du Var*, 21, 104–106.
- Naciones Unidas. (2018). *La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe*. <https://repositorio.cepal.org/server/api/core/bitstreams/cb30a4de-7d87-4e79-8e7a-ad5279038718/content>
- Nishad, R., Ahmed, T., Rahman, V. J., y Kareem, A. (2020). Modulation of Plant Defense System in Response to Microbial Interactions. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01298>
- Noar, R. D., Thomas, E., y Daub, M. E. (2022). Genetic Characteristics and Metabolic Interactions between *Pseudocercospora fijiensis* and Banana: Progress toward Controlling Black Sigatoka. *Plants*, 11(7), 948. <https://doi.org/10.3390/plants11070948>
- Oliveros-Bastidas, A., Cordero, I., Paredes, D., Buendía, D., y Macías Domínguez, F. A. (2011). Extracción y cuantificación de cumarina mediante HPLC-UV en extractos hidroetanólico de semillas de *Dipteryx odorata*. *Rev. Latinoamer. Quím.*, 39, 17–30. [www.relaquim.com](http://www.relaquim.com)
- Orozco-Santos, M., Orozco-Romero, J., Pérez-Zamora, O., Manzo-Sánchez, G., Farías-Larios, J., y Moraes, W. da S. (2008). Prácticas culturales para el manejo de la Sigatoka negra en bananos y plátanos. *Tropical Plant Pathology*, 33(3), 189–196. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762008000300003>

- Pérez Esteve, É., y Rivas Soler, A. (2021). *Determinación de la sensibilidad de los microorganismos frente a antimicrobianos de origen natural y la concentración mínima inhibitoria (CMI) por métodos fenotípicos.*
- Petrović, B., Bumbálek, R., Zoubek, T., Kuneš, R., Smutný, L., y Bartoš, P. (2024). Application of precision agriculture technologies in Central Europe-review. In *Journal of Agriculture and Food Research* (Vol. 15). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101048>
- Ploetz, R. C. (2015). Management of Fusarium wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. *Crop Protection*, 73, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.01.007>
- Price, N. S. (1995). Banana morphology — part I: roots and rhizomes. In *Bananas and Plantains* (pp. 179–189). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-0737-2\\_7](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0737-2_7)
- Qin, L., Zhou, Z., Li, Q., Zhai, C., Liu, L., Quilichini, T. D., Gao, P., Kessler, S. A., Jaillais, Y., Datla, R., Peng, G., Xiang, D., y Wei, Y. (2020). Specific recruitment of phosphoinositide species to the plant-pathogen interfacial membrane underlies Arabidopsis susceptibility to fungal infection. *Plant Cell*, 32(5), 1665–1688. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00970>
- Ramadevi, S., Kaleeswaran, B., y Natarajan, P. (2016). Phytochemicals Analysis and Antimicrobial Activity of *Ruellia patula*; L. against Pathogenic Microorganisms. *South Indian Journal of Biological Sciences*, 2(2), 306. <https://doi.org/10.22205/sijbs/2016/v2/i2/100324>
- Ramón, C., y Gil-Garzón, M. A. (2021). Efecto de los parámetros de operación de la extracción asistida por ultrasonido en la obtención de polifenoles de uva: una revisión. *Tecnológicas*, 24(51), e1822. <https://doi.org/10.22430/22565337.1822>
- Rattan, R. (2023). *Bioactive Phytochemicals from Acanthaceae-Mini Review.* <https://www.researchgate.net/publication/373709366>
- Raymundo-Jiménez, R., García-Ibarra, E., López-Arroyo, J. I., Ramírez-Cabral, N. Y. Z., y Rodríguez-Guerra, R. (2019). Producción y germinación de conidios del hongo entomopatógeno *Hirsutella*

*citriformis* (Ascomycota: Ophiocordycipitaceae). *Scientia Fungorum*, 49, e1221.  
<https://doi.org/10.33885/sf.2019.49.1221>

Regalado, J. G., Plaza, A. M., y Sánchez, C. P. (2019). Threats of leaf spots of Sigatoka (*Mycosphaerella* spp.) in sustainable Ecuadorian banana production. *Revista Verde*, 14(5), 591–596. <https://doi.org/10.18378/rvads.v14i4.6623>

Rendón, M., Shirley, M., Cornejo, X., Santos, J., Villalta, D., Siguencia, R., y Duche, J. (2018). Preliminary phytochemical screening, total phenolic content and antibacterial activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador. *Journal of King Saud University - Science*, 30(4), 500–505. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.03.009>

Reuveni, M., Sanches, E., y Barbier, M. (2020). Curative and suppressive activities of essential tea tree oil against fungal plant pathogens. *Agronomy*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY10040609>

Robinson, J., y Galán, V. (2012). *Bananas and Plantains* (2nd ed.). CAB International. [https://books.google.com.ec/books/about/Bananas\\_and\\_Plantains.html?hl=es&id=9\\_pzFvopbdcCyredir\\_esc=y](https://books.google.com.ec/books/about/Bananas_and_Plantains.html?hl=es&id=9_pzFvopbdcCyredir_esc=y)

Rodino, S., y Butu, M. (2019). Herbal extracts-new trends in functional and medicinal beverages. In *Functional and Medicinal Beverages: Volume 11: The Science of Beverages* (pp. 73–108). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816397-9.00003-0>

Rodríguez, G. A., Mendoza, P. H., Cañarte, C. A., y Sarango, V. M. (2023). Impacto del cambio climático en el cultivo de banano (*Musa paradisiaca*) en Valencia, Los Ríos, Ecuador. *Revista de Climatología*, 23, 117–124. <https://doi.org/10.59427/rcli/2023/v23.117-124>

Romero, W. L. V., Camargo, J. E. R., y Costa, G. M. (2023). Estado del arte en la estandarización de extractos vegetales. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas(Colombia)*, 52(2), 842–867. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v52n2.110745>

- Rosales-López, C., Arnáez-Serrano, E., Moreira- González, I., Garro-Monge, G., Agüero-Hernández, A. L., Jiménez-Quesada, K., Abdelnour-Esquivel, A., y Calvo-Castro, L. (2019). Investigaciones en plantas con potencial bioactivo. *Revista Tecnología En Marcha*. <https://doi.org/10.18845/tm.v32i9.4621>
- Safitri, A., Roosdiana, A., Rosyada, I., Evindasari, C. A., Muzayyana, Z., y Rachmawanti, R. (2019). Phytochemicals screening and anti-oxidant activity of hydroethanolic extracts of *Ruellia tuberosa* L. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 509(1), 012017. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/509/1/012017>
- Sánchez, M. (2022). EVALUACIÓN DE EXTRACTOS BOTÁNICOS MEDIANTE TÉCNICA DE HOJA SIMPLE PARA CONTROL DE SIGATOKA NEGRA (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) EN BANANO.
- Saquicela Cruz, P. S., Romanova, E. V., Guamán Guamán, R. N., Ulloa Cortázar, S. M., y Villavicencio Abril, Á. F. (2023). Caracterización morfológica y bioquímica de *Ralstonia solanacearum* Raza 2, bacteria patógena en cultivos de banano y plátano en El Carmen, Manabí, Ecuador. *Siembra*, 10(1), e4305. <https://doi.org/10.29166/siembra.v10i1.4305>
- Saur, I. M. L., y Hückelhoven, R. (2021). Recognition and defence of plant-infecting fungal pathogens. *Journal of Plant Physiology*, 256, 153324. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153324>
- Sayan, S., Panchaal Bhattacharjee, Prasenjit Kundu, y Debashis Mandal. (2023). *TROPICAL AND SUBTROPICAL FRUIT CROPS Production, Processing, and Marketing* (D. Mandal, U. Wermund, L. Phavaphutanon, y R. Cronje, Eds.). Apple Academic Press. <https://books.google.com.ec/books?id=x16-EAAAQBAJylpg=PP1yhl=esypg=PA125#v=onepageyqyf=false>
- Scortichini, M. (2022). Sustainable Management of Diseases in Horticulture: Conventional and New Options. *Horticulturae*, 8(6), 517. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8060517>

- Seydou, T., Koffi Fernand Jean-Martial, K., Brahima, C., Somnognodin Léonard, O., y Daouda, K. (2021). Biocontrol of *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, the Causal Agent of Black Sigatoka of Banana Tree (*Musa* spp.) Using Biopesticides in Côte d'Ivoire. *Advances in Bioscience and Bioengineering*, 9(4), 111. <https://doi.org/10.11648/j.abb.20210904.13>
- Seydou, T., Ler-N', A., Dade, O., Elisee, G., Koffi, K., Jean-Martial, F., Souleymane, S., Gnenakan, Y., Brahima, C., Leonard, O. S., Daouda, K., y Leonard, S. (2022). Alternative Strategy to the Chemical Control of *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, Causative Agent of Banana Trees Black Sigatoka by the Use of Biopesticides. *American Journal of BioScience*, 10(3), 106–117. <https://doi.org/10.11648/j.ajbio.20221003.13>
- Shaikh, J. R., y Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Silva, C. J., van den Abeele, C., Ortega-Salazar, I., Papin, V., Adaskaveg, J. A., Wang, D., Casteel, C. L., Seymour, G. B., y Blanco-Ulate, B. (2021). Host susceptibility factors render ripe tomato fruit vulnerable to fungal disease despite active immune responses. *Journal of Experimental Botany*, 72(7), 2696–2709. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa601>
- Siswina, T., Miranti Rustama, M., Sumiarsa, D., y Kurnia, D. (2022). Phytochemical profiling of *Piper crocatum* and its antifungal activity as Lanosterol 14 alpha demethylase CYP51 inhibitor: a review. *F1000Research*, 11, 1115. <https://doi.org/10.12688/f1000research.125645.1>
- Souto, A. L., Sylvestre, M., Tölke, E. D., Tavares, J. F., Barbosa-Filho, J. M., y Cebrián-Torrejón, G. (2021). Plant-Derived Pesticides as an Alternative to Pest Management and Sustainable Agricultural Production: Prospects, Applications and Challenges. *Molecules*, 26(16), 4835. <https://doi.org/10.3390/molecules26164835>

- Tan, L. F., Yap, V. L., Rajagopal, M., Wiart, C., Selvaraja, M., Leong, M. Y., y Tan, P. L. (2022). Plant as an Alternative Source of Antifungals against *Aspergillus* Infections: A Review. *Plants*, 11(22), 3009. <https://doi.org/10.3390/plants11223009>
- Tenena, S., Ler-NOgn Dade George Elisees, A., Seydou, T., Koffi Fernand Jean-Martial, K., Camara, B., Nakpalo, S., y Daouda, K. (2022). COMPARATIVE EFFICACY OF FOUR FORMULATIONS BASED ON AROMATIC PLANT EXTRACT AND A SYNTHETIC FUNGICIDE AGAINST MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS MORELET CAUSAL AGENT OF BLACK LEAF STREAK DISEASE (BLSD), IN INDUSTRIAL DESSERT BANANA PRODUCTION. *International Journal of Advanced Research*, 10(02), 1339–1348. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/14347>
- Tripathi, A. D., Mishra, R., Maurya, K. K., Singh, R. B., y Wilson, D. W. (2019). Estimates for World Population and Global Food Availability for Global Health. In *The Role of Functional Food Security in Global Health* (pp. 3–24). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813148-0.00001-3>
- Truong, D.-H., Nguyen, D. H., Ta, N. T. A., Bui, A. V., Do, T. H., y Nguyen, H. C. (2019). Evaluation of the Use of Different Solvents for Phytochemical Constituents, Antioxidants, and *In Vitro* Anti-Inflammatory Activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*, 2019, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2019/8178294>
- Turner, D. W., y Fortescue, J. A. (2012). Bananas (*Musa spp.*). In *Crop Post-Harvest: Science and Technology* (pp. 24–42). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781444354652.ch3>
- Ullah, S., Shujaat, N., Ali Khan, R., Sohail, A., Khan, M., Bilal, H., Ullah Khan, I., Ahmad, M., Khan, M., Ullah, R., Ahmad, B., Ullah Khan, R., y Euro, P. (2021). *Ruellia nudiflora* - Mediated Biological Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Potential Antioxidant, Antifungal and Antibacterial Applications against Selected Multidrug Resistant Bacteria. *Journal of Medical and Life Sciences*, 4(4), 291–302. <https://doi.org/10.31580/pjmls.v4i4.2294>

- Uwineza, P. A., y Waśkiewicz, A. (2020). Recent Advances in Supercritical Fluid Extraction of Natural Bioactive Compounds from Natural Plant Materials. *Molecules*, 25(17), 3847. <https://doi.org/10.3390/molecules25173847>
- Valdivieso Sánchez, M. A., Sánchez Urdaneta, A. B., Cervantes Álava, A. R., y Narváez Orellana, A. F. (2021). Control de Sigatoka negra en banano con fungicidas orgánicos en época de lluvia. *Revista Científica Agroecosistemas*, 9, 108–113. <https://orcid.org/0000-0001-5430-4139>
- Valencia, D., Rueda Puente, E. O., Leyva Peralta, M. A., Mazón-López, S. R., y Ortega-García, J. (2020). Compuestos bioactivos, actividad antioxidante y perfil de ácidos grasos en aceite de semilla de Mezquite (*Prosopis* spp). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 70(1), 50–59. <https://doi.org/10.37527/2020.70.1.006>
- Vargas-Hernández, J. G., Rodríguez, D., Sanabria, M. E., y Hernández, J. (2009, May 26). Efecto de tres extractos vegetales sobre la Sigatoka negra del plátano (*Musa* AAB cv. Hartón). *Revista Científica UDO Agrícola*, 9, 182–190. <https://www.researchgate.net/publication/47372025>
- Vasantharaj, S. (2013). Antimicrobial Potential and Screening of Antimicrobial compounds of *Ruellia tuberosa* Using GC-MS. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 31, 184–188.
- Vasconcelos, A. A., Veras, I. N. de S., Vasconcelos, M. A. de, Andrade, A. L., dos Santos, H. S., Bandeira, P. N., Souza, E. B. de, Albuquerque, M. R. J. R., y Teixeira, E. H. (2023). Chemical composition determination and evaluation of the antibacterial activity of essential oils from *Ruellia asperula* (Mart. Ex Ness) Lindau and *Ruellia paniculata* L. against oral streptococci. *Natural Product Research*, 37(2), 333–337. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1960521>
- Vinchira-Villarraga, D. M., y Moreno-Sarmiento, N. (2019). Control biológico: Camino a la agricultura moderna. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 2–5. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80860>

Zhang, S., Li, C., Si, J., Han, Z., y Chen, D. (2022). Action Mechanisms of Effectors in Plant-Pathogen Interaction. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12), 6758.  
<https://doi.org/10.3390/ijms23126758>

## APÉNDICES

Apéndice A: Caracterización Fitoquímica de *Ruellia floribunda*

La tabla presentada a continuación recopila los metabolitos secundarios reportados en los extractos de hojas en *R. floribunda* según fuentes propias y relacionadas.

METABOLITO	ENSAYO	CONTENIDO EN HOJAS					
		SOXHLET		MACERACIÓN		SOXHLET	
		E	M	E	M	E	M
Curaminas	Hidróxido de potasio		+	+		+	
	WR (Wagner)	+		++	++	+	++
	MR (Mayer)	+	+++	+	+++	+	++
Alcaloides	H (Hager)			+	++	+	++
	DR (Dragendorff)	++	++	++	++	++	++
	BR (Bouchardat)						
Flavonoides	SR (Shinoda)	++					
	NaOH 10% (Hidróxido de sodio)	+++					
Fenoles/taninos	FeCl <sub>3</sub> 5% (Cloruro férrico)	++		+	+	+	+
	Foam-1	+++					
Saponinas	L-BR (Liebermann-Burchard)	+++					
	SR (Salkowski)*	+++					
	BR (Borntrager)*	+					
Terpenoides	NH <sub>4</sub> OH 10% (Hidróxido de amonio)	+++					
Esteroides	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Ácido sulfúrico)	+++					

**Nota:** Las observaciones sobre la presencia o ausencia de metabolitos secundarios se evaluaron en una escala cuantitativa de acuerdo a su intensidad donde (+) indica baja, (++) indica

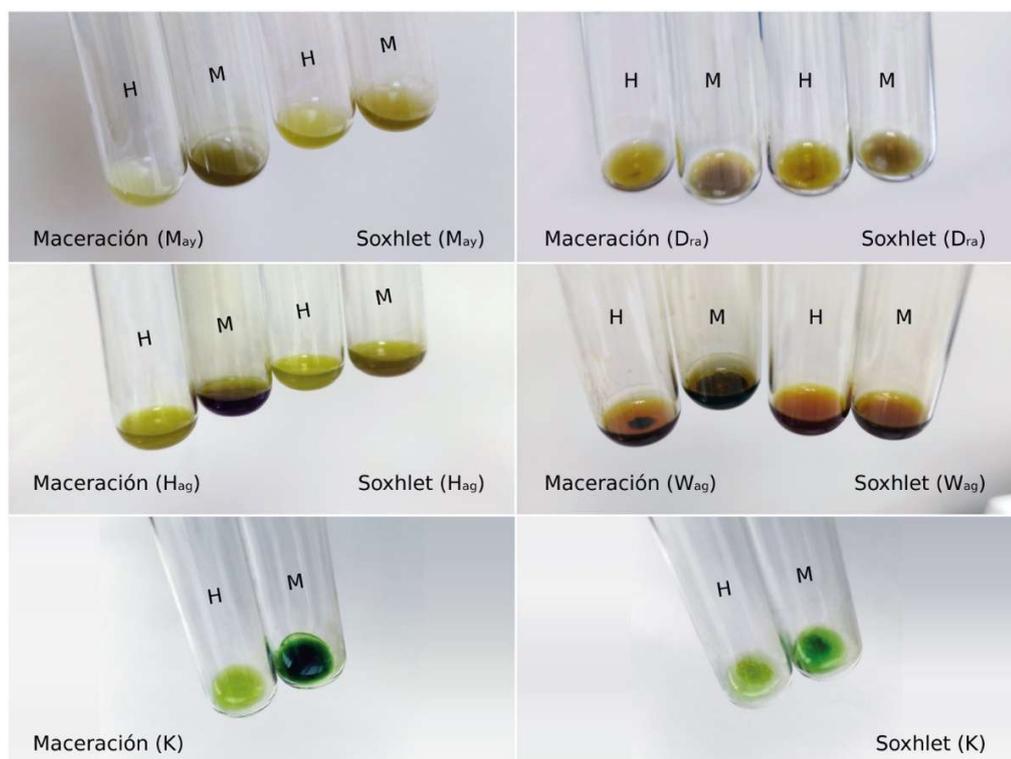
media, (+++) indica alta. Por otra parte, E representa hidroalcoholes, y M metanoles. Fuentes: (Helou y Espin, 2023; Rendón et al., 2018).

### Apéndice B: Documentación Gráfica del Proceso Experimental

A continuación, se ilustra las etapas clave del proceso experimental, incluyendo recolección, extracción y análisis de los extractos de *Ruellia floribunda*.



**Imagen 1.** Parte experimental de la caracterización de *Ruellia floribunda*.



**Imagen 2.** Ensayos realizados en hojas de *R. floribunda*. Alcaloides: Mayer (May), Dragendorff (Dra), Hager (Hag), Wagner (Wag), Cumarinas: Hidróxido de potasio (K). Solventes: H (Hidroalcoholes) M (Metanoles). Elaborado por autor (2024).