



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

**SEDE GUAYAQUIL**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE *HELIOTROPIUM INDICUM* (COLA DE ALACRÁN) SOBRE EL  
FITOPATÓGENO *MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS***

*Trabajo de titulación previo a la obtención del*

*Título de Ingeniera en Biotecnología*

**AUTOR:** VIVIAN ANDREA ERAZO MENDOZA

**TUTOR:** MSC. BRENDA PATRICIA LÓPEZ ULLOA PHD

**GUAYAQUIL - ECUADOR**

**2024**

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

Yo, **Vivian Andrea Erazo Mendoza** con documento de identificación N° 0924342546,  
manifiesto que:

Soy la autora y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la  
Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o  
parcial el presente trabajo de titulación.

Guayaquil, 29 de febrero del año 2024

Atentamente,



Vivian Andrea Erazo Mendoza

CI. 0924342546



**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, **Vivian Andrea Erazo Mendoza** con documento de identificación N° 0924342546, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del Trabajo Experimental: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *HELIOTROPIUM INDICUM* (COLA DE ALACRÁN) SOBRE EL FITOPATÓGENO *MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS*”**, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniera en Biotecnología*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 29 de febrero del año 2024

Atentamente,



---

Vivian Andrea Erazo Mendoza

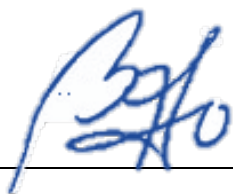
CI. 0924342546

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, **Brenda Patricia López Ulloa** con documento de identificación N° 0960450922, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *HELIOTROPIUM INDICUM* (COLA DE ALACRÁN) SOBRE EL FITOPATÓGENO *MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS*”**, realizado por **Vivian Andrea Erazo Mendoza** con documento de identificación N° 0924342546, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 29 de febrero del año 2024

Atentamente,



---

Brenda Patricia López Ulloa

CI. 0960450922

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mi tía abuela Angelita que, aunque no pudo llegar a presenciar mi graduación yo sé que donde quiera que este siempre está cuidándome y guiándome por el buen camino; y siempre la tengo presente en mi corazón.

A mi tía abuela Juanita, quien me ha brindado su amor y su apoyo incondicional durante todos mis estudios, para verme crecer y ser una mujer de bien.

A Andrés Martínez, quien más que un apoyo ha sido mi compañero, guía y pilar fundamental durante todos estos años, siempre impulsándome y consolándome cuando más lo necesitaba, recordándome todo lo que valgo y las cosas grandiosas que puedo lograr, ya que sin su aporte no hubiera sido posible llegar hasta aquí.

## AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer a Dios y a mi familia, por su amor incondicional. También quisiera expresar mi gratitud hacia mi tutora de tesis MSc. Brenda López, quien me ha apoyado paso a paso durante todo el desarrollo de mi tesis dándome ánimos, consejos y motivándome a seguir adelante.

A mi co-tutor, Ing. Kevin Cedeño por sugerirme este tema de tesis y guiarme paso a paso en todo el desarrollo experimental, así como en el manuscrito, motivándome, teniendo demasiada paciencia y diciéndome que no me rindiera y que cada vez estábamos más cerca de culminar el trabajo.

A mi profesora, Ing. Alejandra de la Cruz quien siempre estuvo dispuesta a brindarme todo su conocimiento y enseñarme nuevas cosas que me ayudaran a convertirme en una excelente profesional.

A las auxiliares de laboratorio, Q.F. Angie Auz e Blga. Carla Zamora que estuvieron al pendiente de todas las cosas que necesitaba, guiándome y enseñándome durante todo el proceso siempre predisuestas.

A mi prima Luciana Molinari y a Fernando Figueira quienes pacientemente escuchaban mis molestias y me daban ánimos, apoyándome y diciéndome que si puedo.

Y a Panchito que ha sido un amigo fiel y me ha acompañado a mis develadas.

## RESUMEN

El fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis* afecta su sistema foliar y, obstaculizando el desarrollo y rendimiento del cultivo. Esta interferencia interrumpe procesos biológicos cruciales, como la fotosíntesis, la floración y el crecimiento vegetativo óptimo, lo que conduce a la formación de racimos con pesos considerablemente inferiores a los estándares comerciales. Este efecto perjudicial tiene importantes implicaciones económicas para los productores de banano. Por lo tanto, la evaluación de la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Heliotropium indicum* (cola de alacrán) emerge como una posible solución para controlar la propagación del fitopatógeno en las plantaciones de banano. Este estudio tiene como objetivo determinar si el extracto etanólico de cola de alacrán posee propiedades antifúngicas capaces de inhibir o reducir la acción del fitopatógeno, con el objetivo último de mejorar la salud y productividad de los cultivos de banano. Esta investigación tiene importancia en el desarrollo de estrategias efectivas y sostenibles de manejo de enfermedades, contribuyendo así a la seguridad alimentaria y económica regional. Los extractos de hojas, ramas y tallos demostraron tener actividad biológica sobre *Mycosphaerella fijiensis*. Lo cual nos indica que *Heliotropium indicum* podría tener la capacidad de reducir la presencia y propagación del fitopatógeno en las plantas, mejorando la capacidad fotosintética, el desarrollo vegetativo y, el rendimiento del cultivo de banano.

**Palabras Clave:** Inhibición; Fitopatógeno; Difusión en agar; Metabolitos.

## ABSTRAC

The phytopathogen *Mycosphaerella fijiensis* affects its foliar system, hindering the development and yield of the crop. This interference disrupts crucial biological processes such as photosynthesis, flowering, and optimal vegetative growth, forming bunches with weights considerably lower than commercial standards. This detrimental effect has significant economic implications for banana producers. Therefore, evaluating the antifungal activity of the ethanolic extract of *Heliotropium indicum* (scorpion tail) emerges as a possible solution to control the spread of the phytopathogen in banana plantations. This study aims to determine if the ethanolic extract of the scorpion tail has antifungal properties capable of inhibiting or reducing the action of the phytopathogen, aiming to improve the health and productivity of banana crops. This research is essential in developing practical and sustainable disease management strategies, thus contributing to regional food and economic security. The leaves, branches, and stem extracts demonstrated biological activity on *Mycosphaerella fijiensis*. This indicates that *Heliotropium indicum* could have the ability to reduce the presence and spread of phytopathogen in plants, improving photosynthetic capacity, vegetative development, and the yield of the banana crop.

**Keywords:** Inhibition; Phytopathogen; Agar diffusion; Metabolites.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>1</b>
<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1</b> <b>Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2</b> <b>Planteamiento del problema</b> .....	<b>2</b>
1.2.1 <b>Importancia y Alcance</b> .....	<b>2</b>
<b>1.3</b> <b>Delimitación</b> .....	<b>3</b>
1.3.1 <b>Delimitación Espacial</b> .....	<b>3</b>
1.3.2 <b>Delimitación Temporal</b> .....	<b>4</b>
1.3.3 <b>Delimitación Académica</b> .....	<b>4</b>
<b>1.4</b> <b>Pregunta de investigación</b> .....	<b>5</b>
<b>1.5</b> <b>Objetivos</b> .....	<b>5</b>
1.5.1 <b>Objetivo General</b> .....	<b>5</b>
1.5.2 <b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>6</b>
<b>1.6</b> <b>Hipótesis</b> .....	<b>6</b>
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>7</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>7</b>
<b>2.1</b> <b>Banano (<i>Musa paradisiaca L.</i>)</b> .....	<b>7</b>
2.1.1 <b>Taxonomía del Banano</b> .....	<b>10</b>
2.1.2 <b>Ciclo del Cultivo del Banano</b> .....	<b>11</b>
2.1.3 <b>Producción bananera</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2</b> <b>Sigatoka negra</b> .....	<b>18</b>
2.2.1 <b>Clasificación Taxonómica de la Sigatoka negra</b> .....	<b>20</b>

2.2.2	<i>Afectación en los Cultivos a Nivel Mundial</i> .....	21
2.2.3	<i>Afectación en los Cultivos a Nivel Nacional</i> .....	22
<b>2.3</b>	<b><i>Sintomatología de la enfermedad</i></b> .....	<b>23</b>
<b>2.4</b>	<b><i>Reproducción del patógeno</i></b> .....	<b>25</b>
2.4.1	<i>Identificación de la Sigatoka negra</i> .....	27
<b>2.5</b>	<b><i>Actividad antifúngica</i></b> .....	<b>29</b>
2.5.1	<i>Agroquímicos contra la Sigatoka negra</i> .....	32
<b>2.6</b>	<b><i>Controles biológicos contra la Sigatoka negra</i></b> .....	<b>33</b>
2.6.1	<i>Extractos Vegetales</i> .....	34
2.6.2	<i>Obtención de Extractos Vegetales</i> .....	35
<b>CAPÍTULO III.</b> .....		<b>39</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....		<b>39</b>
<b>3.1</b>	<b><i>Metodología de la investigación</i></b> .....	<b>39</b>
<b>3.2</b>	<b><i>Variables</i></b> .....	<b>39</b>
3.2.1	<i>Variable Dependiente</i> .....	39
3.2.2	<i>Variable Independiente</i> .....	40
<b>3.3</b>	<b><i>Recolección de datos</i></b> .....	<b>40</b>
<b>3.4</b>	<b><i>Protocolos</i></b> .....	<b>41</b>
3.4.1	<i>Recolección y Herborización de la Especie Vegetal</i> .....	41
3.4.2	<i>Limpieza y desinfección</i> .....	44
3.4.3	<i>Protocolo para la Obtención de Extractos Etanólicos</i> .....	44
3.4.4	<i>Protocolo del Tamizaje Fitoquímico</i> .....	48
3.4.5	<i>Prueba de Inhibición (Difusión en Agar)</i> .....	52
3.4.6	<i>Evaluación in vitro de los extractos vegetales contra la Sigatoka Negra</i> .....	56



<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>59</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>59</b>
<b>4.1    <i>Identificación de la especie vegetal.....</i></b>	<b>59</b>
4.1.1 <i>Descripción morfológica de la planta Heliotropium indicum .....</i>	59
<b>4.2    <i>Tamizaje fitoquímico .....</i></b>	<b>61</b>
<b>4.3    <i>Identificación del fitopatógeno (Mycosphaerella fijiensis) .....</i></b>	<b>68</b>
<b>4.4    <i>Actividad antifúngica del extracto etanólico .....</i></b>	<b>70</b>
<b>CAPÍTULO V. ....</b>	<b>74</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>74</b>
<b>5.1    <i>Conclusiones.....</i></b>	<b>74</b>
<b>5.2    <i>Recomendaciones .....</i></b>	<b>75</b>
<b>CAPÍTULO VI. ....</b>	<b>76</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>76</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>86</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Imagen satelital de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Guayaquil, campus María Auxiliadora y del Remanente Bosque Tropical dentro del campus.....	4
<b>Figura 2.</b> Taxonomía morfológica de una planta de plátano y banano. Esta planta presenta una estructura peculiar con tallos subterráneos conocidos como cormos, rizomas, bulbos o tubérculos, siendo "cormos" el término más ampliamente aceptado.....	8
<b>Figura 3.</b> Ciclo del cultivo del banano.....	15
<b>Figura 4.</b> Afectación de la Sigatoka negra a las hojas del banano.....	21
<b>Figura 5.</b> Sintomatología de la enfermedad de la Sigatoka negra.....	24
<b>Figura 6.</b> Ciclo de Vida de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en el cultivo de banano.....	26
<b>Figura 7.</b> Clasificación de los métodos de obtención de extractos vegetales.....	36
<b>Figura 8.</b> Especie vegetal recolectada.....	42
<b>Figura 9.</b> Verificación de la especie vegetal recolectada.....	42
<b>Figura 10.</b> Herbario de la especie vegetal recolectada.....	43
<b>Figura 11.</b> Esquema metodológico sobre obtención de extractos etanólicos y evaluación fitoquímica.....	46
<b>Figura 12.</b> Localización satelital de la hacienda de banano, Finca Orgánica San José, ubicada en Milagro.....	53
<b>Figura 13.</b> Estadios de la Sigatoka negra.....	53
<b>Figura 14.</b> Incubación del fitopatógeno.....	56
<b>Figura 15.</b> Esquema metodológico sobre la difusión en Agar y la evaluación <i>in vitro</i> .....	58

<b>Figura 16.</b> Recolección de <i>Heliotropium indicum</i> en una zona pantropical.....	<b>60</b>
<b>Figura 17.</b> Resultados del alcaloide.....	<b>62</b>
<b>Figura 18.</b> Resultados de saponinas.....	<b>63</b>
<b>Figura 19.</b> Resultados de flavonoides.....	<b>64</b>
<b>Figura 20.</b> Resultados de Cumarinas.....	<b>66</b>
<b>Figura 21.</b> Resultados de carbohidratos.....	<b>67</b>
<b>Figura 22.</b> Resultados de proteínas.....	<b>68</b>
<b>Figura 23.</b> Identificación microscópica del fitopatógeno <i>Sigatoka negra</i> .....	<b>70</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Linaje taxonómico del Banano ( <i>Musa paradisiaca</i> L.) .....	<b>10</b>
<b>Tabla 2.</b> Linaje taxonómico de la Sigatoka negra ( <i>Mycosphaerella fijiensis</i> ).....	<b>20</b>
<b>Tabla 3.</b> Materiales y Equipos .....	<b>47</b>
<b>Tabla 4.</b> Clasificación del metabolito secundario .....	<b>50</b>
<b>Tabla 5.</b> Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito alcaloide realizado al EE de la hoja, rama y tallo de <i>Heliotropium indicum</i> .....	<b>61</b>
<b>Tabla 6.</b> Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito saponina realizado al EE de la hoja, rama y tallo de <i>Heliotropium indicum</i> .....	<b>63</b>
<b>Tabla 7.</b> Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito flavonoide realizado al EE de la hoja, rama y tallo de <i>Heliotropium indicum</i> .....	<b>64</b>
<b>Tabla 8.</b> Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito cumarina realizado al EE de la hoja, rama y tallo de <i>Heliotropium indicum</i> .....	<b>65</b>
<b>Tabla 9.</b> Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito carbohidrato realizado al EE de la hoja, rama y tallo de <i>Heliotropium indicum</i> .....	<b>66</b>
<b>Tabla 10.</b> Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito proteína realizado al EE de la hoja, rama y tallo de <i>Heliotropium indicum</i> .....	<b>67</b>
<b>Tabla 11.</b> Porcentaje de inhibición de cada extracto.....	<b>71</b>

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1. Recolección de la especie vegetal.....</b>	<b>86</b>
<b>Anexo 2. Colocación del secado de las partes de la espécimen vegetal y resultado final luego de las 72 horas.....</b>	<b>86</b>
<b>Anexo 3. Etiquetado, triturado y pulverizado .....</b>	<b>87</b>
<b>Anexo 4. Maceración en frío durante 3 horas y filtrado de cada extracto.....</b>	<b>88</b>
<b>Anexo 5. Secado por completo los extractos usando el rotavapor .....</b>	<b>89</b>
<b>Anexo 6. Recolección de las hojas de las hojas de banano afectados por <i>Mycosphaerella fijiensis</i>.....</b>	<b>90</b>
<b>Anexo 7. Preparación de la cámara húmeda, incubación a 7°C, resultados luego de las 24 horas y microscopia.....</b>	<b>91</b>
<b>Anexo 8. Preparación del hipoclorito de sodio al 1% y sembrado .....</b>	<b>92</b>
<b>Anexo 9. Preparación, dispensado y etiquetado del SDA.....</b>	<b>92</b>
<b>Anexo 10. Inoculación del fitopatógeno en el SDA.....</b>	<b>93</b>
<b>Anexo 11. Crecimiento del fitopatógeno.....</b>	<b>94</b>
<b>Anexo 12. Preparación del medio envenenado + control negativo .....</b>	<b>95</b>
<b>Anexo 13. Inoculación del SDA mediante la técnica de punción .....</b>	<b>96</b>
<b>Anexo 14. Identificación microscópica del fitopatógeno, mediante azul de lactofenol ....</b>	<b>97</b>
<b>Anexo 15. Observación de los controles + más el medio envenenado del crecimiento del fitopatógeno.....</b>	<b>98</b>

## CAPÍTULO I.

### ANTECEDENTES

#### ***1.1 Introducción***

La planta del *Musa spp.*, conocida como banano, es una de las frutas más cultivadas a nivel mundial, es una planta originaria del sudeste asiático, sin embargo, su cultivo se ha extendido a todas las regiones tropicales, convirtiéndose en un pilar fundamental de la economía global (Morales Romero et al., 2011). Esta planta es una fuente importante de alimento para millones de personas cuyo cultivo tiene un papel crucial en la economía de numerosos países de América Latina y el Caribe (Moreno, 2006). Ecuador se destaca como uno de los mayores exportadores de banano a nivel mundial, con vastas extensiones de tierra dedicadas a su cultivo, especialmente en las regiones costeras, gozando de una alta reputación internacional por su calidad y sabor (Peñuelas-Rubio et al., 2015).

Las plantaciones de banano enfrentan una serie de desafíos para su desarrollo. La principal dificultad que enfrentan las plantaciones de banano se atribuye a la presencia del fitopatógeno ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis*, causante de la enfermedad conocida como Sigatoka negra (Moreno, 2006). Esta enfermedad afecta el sistema foliar de la planta, disminuyendo la eficacia de la fotosíntesis y obstaculizando la capacidad de la planta para completar su floración y lograr un desarrollo vegetativo óptimo (Morales Romero et al., 2011). La sigatoka negra representa una amenaza constante para las plantaciones de banano en todo el mundo, especialmente en aquellas regiones con alta humedad y temperaturas cálidas, condiciones idóneas para la propagación del fitopatógeno.

El estudio de *Mycosphaerella fijiensis* en Ecuador es de importancia fundamental debido a la relevancia que tiene este cultivo para la economía del país. Debido a esto, la realización de este trabajo ayudará con avances biotecnológicos propósito de controlar la incidencia del fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis*. Esta investigación tiene como finalidad evaluar las propiedades antifúngicas presentes en extractos vegetales, con la intención de reducir la necesidad de utilizar productos químicos, ya que el uso de estos puede provocar la aparición de cepas resistentes, reduciendo la efectividad de los tratamientos y aumentando la dificultad para controlar la enfermedad a largo plazo. Aunado a que su uso excesivo altera el ecosistema y genera problemas tóxicos en la salud humana (Peñuelas-Rubio et al., 2015).

## ***1.2 Planteamiento del problema***

### ***1.2.1 Importancia y Alcance***

El fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis* es responsable de dañar el sistema foliar de las plantas de banano, lo que tiene consecuencias negativas significativas en el desarrollo y rendimiento de los cultivos (Esperanza et al., 2012). La presencia de este fitopatógeno en las plantaciones de banano provoca una disminución en la capacidad fotosintética de las plantas, lo que a su vez afecta su capacidad para florecer y lograr un desarrollo vegetativo óptimo. La interferencia con estos procesos biológicos es un obstáculo importante, ya que impide que las plantas alcancen su máximo potencial de producción (Campoverde & Jairo, 2016a). Como consecuencia, se forman racimos con un peso considerablemente inferior a los estándares comerciales requeridos, lo que tiene implicaciones económicas para los productores de banano (Morales Romero et al., 2011).

En este contexto, la evaluación de la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Heliotropium indicum* (cola de alacrán) se presenta como una posible solución o medida preventiva para controlar la propagación de *Mycosphaerella fijiensis* en las plantaciones de banano. Este estudio busca determinar si el extracto etanólico de cola de alacrán posee propiedades antifúngicas que pueden inhibir o reducir la acción del fitopatógeno, con el objetivo de mejorar la salud y productividad de los cultivos de banano. La importancia de este trabajo radica en su potencial para desarrollar estrategias efectivas y sostenibles de manejo de enfermedades en las plantaciones de banano, contribuyendo así a la seguridad alimentaria y económica de la región.

### **1.3 Delimitación**

#### **1.3.1 Delimitación Espacial**

En el presente estudio, la especie vegetal (*Heliotropium indicum*) fue recolectada en la Universidad Politécnica Salesiana en el Campus María Auxiliadora, ubicado en el Km 19 vía a la costa, para lo cual como se puede observar en la **figura 1**. La delimitación espacial se centrará sólo al área del campus de la universidad como ubicación de toma de muestras, realización de los estudios y análisis de laboratorio, etc.





**Figura 1.** Imagen satelital de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Guayaquil, campus María Auxiliadora y del Remanente Bosque Tropical dentro del campus, obtenida de Google Maps, coordenadas -2.19703, -80.04315.

### 1.3.2 Delimitación Temporal

El presente trabajo de investigación se desarrolló desde el mes de noviembre con la presentación de la propuesta de diseño de trabajo de titulación, el cual luego de su aprobación se comenzó la redacción de los avances iniciales en el mes de diciembre.

### 1.3.3 Delimitación Académica

El presente estudio se enfocó en poder evaluar la actividad antifúngica del extracto etanólico de la especie vegetal *Heliotropium indicum*, para poder demostrar su efectividad contra el fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis* causante de la Sigatoka negra que afecta las plantaciones de banano. Se realizó una herborización de la planta para identificar la especie vegetal recolectada.

Así mismo, se utilizó como método de validación de la muestra un tamizaje fitoquímico y se evaluó la actividad antifúngica de extracto etanólico vegetal por medio del método de difusión en agar. Los materiales de laboratorio, así como las instalaciones, fueron provistos por la Universidad Politécnica Salesiana, sede Guayaquil, campus María Auxiliadora.

Los resultados de la presente investigación podrán contribuir a evitar que se propague el fitopatógeno causante de la Sigatoka negra, disminuyendo la afectación en las plantaciones de banano y teniendo un fungicida de extracto natural.

#### ***1.4 Pregunta de investigación***

¿Los extractos etanólicos de *Heliotropium indicum* presentan metabolitos secundarios que otorgan propiedades de inhibición y/o reducción de la actividad del fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis*?

#### ***1.5 Objetivos***

##### ***1.5.1 Objetivo General***

Evaluar la actividad antifúngica del extracto etanólico vegetal *Heliotropium indicum* (cola de alacrán) sobre el fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis*.

### 1.5.2 *Objetivos Específicos*

- Realizar la revisión bibliográfica de la actividad antifúngica y el muestreo de *Heliotropium indicum* (cola de alacrán).
- Obtener el extracto etanólico de la especie vegetal *Heliotropium indicum*.
- Determinar el porcentaje de inhibición mediante difusión en agar del extracto sobre el fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis*.

### 1.6 *Hipótesis*

La aplicación del extracto etanólico de *Heliotropium indicum* (cola de alacrán) tendrá un efecto significativo en la inhibición de la actividad del fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis*. Se sostiene que el extracto, debido a sus propiedades antifúngicas, demostrará capacidad para reducir la presencia y propagación del fitopatógeno en las plantas, contribuyendo así a mejorar la capacidad fotosintética, el desarrollo vegetativo y, en última instancia, el rendimiento de los cultivos de banano.

## CAPÍTULO II.

### MARCO TEÓRICO

#### *2.1 Banano (Musa paradisiaca L.)*

El banano, una planta herbácea monocotiledónea, se destaca como uno de los cultivos más relevantes y fascinantes. Sus orígenes se remontan al sudeste de Asia, donde se cree que todos los cultivares actuales han surgido de híbridos naturales. Los primeros agricultores de la región desempeñaron un papel crucial en la selección y desarrollo de las variedades que conocemos hoy en día (Sabio et al., 2000).

Norman Simmonds, en sus investigaciones sobre los inicios de la agricultura en el sudeste de Asia, plantea la interesante perspectiva de que el banano fue uno de los primeros cultivos domesticados por la humanidad. En su obra, el autor sugiere que esta planta se desarrolló en paralelo con el surgimiento de la agricultura sedentaria primitiva en la región, aproximadamente hace unos diez mil años. Este hecho histórico resalta la íntima relación entre el banano y el desarrollo temprano de las prácticas agrícolas, convirtiéndolo en un componente esencial en la historia de la alimentación humana (Simmonds, 1966).

Este cultivo de importancia económica a nivel mundial pertenece a la familia *Musaceae*, encuadrado dentro del género *Musa*, el cual abarca diversas especies como *Musa acuminata* y *Musa balbisiana*. A través de procesos de hibridación, se han desarrollado variedades de plátanos comestibles que presentan la característica de ser partenocárpicos, es decir, capaces de producir frutos sin necesidad de ser fecundados (Rosales et al., 2004a). La producción de banano se lleva a cabo principalmente en zonas de climas tropicales y subtropicales, donde el

cultivo experimenta un ciclo vegetativo continuo, permitiendo así un crecimiento constante de la planta, tal como se observa en la **figura 2**, y así mismo la producción de frutos a lo largo de todo el año, generando así una actividad productiva sostenida (Anibar et al., 2021).



**Figura 2. Taxonomía morfológica de una planta de plátano y banano.** Esta planta presenta una estructura peculiar con tallos subterráneos conocidos como cormos, rizomas, bulbos o tubérculos, siendo "cormos" el término más ampliamente aceptado. Imagen obtenida del blog de Cultivos orgánicos de Plátano y Banano más productivos, elaborado por (Root, 2022).

El cormo es una estructura subterránea que forma parte del sistema de raíces de la planta de banano. Cada cormo, en su mayoría, genera un pseudotallo en su eje floral, así como una o varias yemas que darán origen a nuevos cormos. Este proceso resulta en la formación de una mata que se expande radialmente en todas las direcciones. Los cormos secundarios generan pseudotallos o hijuelos de diversas edades, los cuales florecerán cuando el pseudotallo original desaparezca. Algunos de estos hijuelos no mantienen una conexión sólida con la mata principal, denominándose "hijos de agua", mientras que aquellos que permanecen bien unidos se conocen como "hijos de espada" (Segura, 2018). La estructura de la planta del banano se caracteriza por una apariencia exuberante, la cual está dada por el pseudotallo, compuesto por la acumulación

de hojas enrolladas en forma de espiral. Desde el centro del pseudotallo emerge el racimo de frutas, sostenido por un largo tallo llamado pedúnculo. Las hojas son grandes y anchas, que alcanzan hasta los tres metros de longitud. Esta compleja estructura de crecimiento revela la capacidad de la planta de banano para expandirse y renovarse de manera continua, contribuyendo a su resistencia y capacidad de reproducción (InfoAgro, 2023).

La ecofisiología del cultivo de banano requiere condiciones específicas para su desarrollo óptimo, abarcando tanto aspectos geográficos como climáticos. Desde una perspectiva geográfica, el banano prospera en latitudes comprendidas entre los 30° al norte y al sur, extendiéndose desde Israel en el hemisferio norte hasta Australia en el hemisferio sur (InfoAgro, 2023). En términos de altitud, el rango ideal es desde el nivel del mar hasta los 500 metros sobre el nivel del mar, con un límite máximo de 1000 metros sobre el nivel del mar. A medida que la altitud aumenta en 100 metros, se observa un retardo adicional de un mes desde la siembra hasta la floración (Portal Frutícula, 2022).

Desde el punto de vista climático, la temperatura desempeña un papel esencial, con un rango óptimo de 25 a 27°C durante el día y 16 a 18°C durante la noche. Las temperaturas bajas afectan negativamente el crecimiento y desarrollo de la fruta, evidenciándose en manchas oscuras al pelar los bananos (Simmonds, 1966). En cuanto a la luminosidad, aunque el banano parece no responder al fotoperiodo, requiere una alta intensidad de luz para un desarrollo óptimo. Menor luminosidad alarga el ciclo de 8 a 9 meses a 14 a 18 meses y el periodo de floración a fruto de 80 a 90 días puede extenderse de 85 a 110 días. Se estima un mínimo de 4 horas diarias de luz con una intensidad de 2000 a 10000 lux en climas tropicales (Davicino et al., 2007).

La precipitación mensual adecuada varía entre 180 y 200 mm, con la planta necesitando 1.75 - 2.00 pulgadas de agua por semana. En días soleados, se requieren 25 litros de agua diarios, mientras que en días nublados la cifra desciende a 9.5 litros debido a una menor evapotranspiración. Es esencial un buen sistema de drenaje para evitar microclimas propicios para la Sigatoka negra (Segura, 2018).

En cuanto a los vientos, el banano es susceptible a vientos moderados o excesivos. Vientos leves de 20 km/h producen rasgaduras en las hojas, siendo soportables. Entre 20 y 40 km/h, la ruptura de la hoja es considerable, pudiendo reducir los rendimientos en hasta un 20%. Vientos superiores a 40 km/h resultan en desraizamiento o quebradura del pseudotallo, mientras que vientos que superan los 55 km/h pueden provocar daño total (Simmonds, 1966).

Se destaca el fenómeno del "Blow down", ráfagas de viento que causan daños considerables en ciertas áreas de la plantación, resultando en la pérdida total de esa generación de madres (Robinson & Galán Saúco, 2012). La sustitución de la variedad "Valery" por "Grand Nain" ha sido una medida para reducir los daños, ya que esta última posee un pseudotallo más robusto y una resistencia cinco veces mayor a los vientos que "Valery" (Simmonds, 1966).

### 2.1.1 Taxonomía del Banano

#### **Tabla 1.**

*Linaje taxonómico del Banano (Musa paradisiaca L.)*

<b>Linaje taxonómico</b>	
<b>Organismo</b>	Organismos celulares
<b>Superreino</b>	Eucariota

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Filo</b>	Angiospermas (Magnoliophyta)
<b>Subfilo</b>	Monocotiledóneas (Liliopsida)
<b>Clado</b>	Commelinids
<b>Clado</b>	Zingiberales
<b>Clado</b>	Musaceae
<b>Clado</b>	Musoideae
<b>Clase</b>	Liliopsida
<b>Clado</b>	Zingiberales
<b>Clado</b>	Zingiberidae
<b>Clado</b>	Zingiberanae
<b>Orden</b>	Zingiberales
<b>Familia</b>	Musaceae
<b>Subfamilia</b>	Musoideae
<b>Clado</b>	Zingiberales
<b>Tribu</b>	Museae
<b>Género</b>	<i>Musa</i>
<b>Especie</b>	<i>Musa spp.</i>

*Nota.* Información de (Schoch et al., 2020).

### 2.1.2 Ciclo del Cultivo del Banano

El ciclo de cultivo del banano puede ser segmentado en tres etapas fundamentales: la fase inicial, la fase juvenil y la fase adulta. La duración total del ciclo de cultivo de banano puede variar según la región productiva y las condiciones climáticas, pero generalmente se extiende entre 35 y 37 semanas después de la siembra (Vargas Céspedes et al., 2017a).

- Fase inicial

La fase inicial abarca alrededor de 10 semanas, marca el inicio del ciclo de cultivo de banano, durante el cual la planta se dedica al desarrollo de raíces y hojas nuevas. Las raíces son responsables de absorber nutrientes y agua del suelo, proporcionando el soporte necesario para el crecimiento y la estabilidad de la planta. Un sistema radicular



robusto contribuye a la salud general de la planta y le permite resistir condiciones adversas, como vientos fuertes o sequías. Durante estas primeras semanas, la planta de banano establece las bases para un sistema de raíces fuerte que será fundamental para su desarrollo a lo largo de todo el ciclo de cultivo (InfoAgro, 2023).

Simultáneamente, la producción de hojas nuevas también es una prioridad en esta fase. Las hojas son esenciales para la fotosíntesis, el proceso mediante el cual la planta convierte la luz solar en energía. Cuantas más hojas tenga la planta, mayor será su capacidad para producir energía y, por lo tanto, para crecer de manera vigorosa. Durante estas primeras 10 semanas, la planta de banano se esfuerza por generar un follaje exuberante que contribuirá a su salud y vitalidad en las etapas posteriores del ciclo.

- Fase juvenil

La fase juvenil, que se extiende por aproximadamente 15 semanas, representa la segunda etapa del ciclo. Durante este período, la planta experimenta un crecimiento acelerado y desarrolla un pseudotallo junto con hojas más amplias. Uno de los aspectos más distintivos de la fase juvenil es la formación del pseudotallo. El pseudotallo es una estructura única que se origina a partir de la base de las hojas antiguas enrolladas. Aunque esta estructura parece ser un tronco, es esencialmente un conglomerado de bases de hojas apiladas. Este pseudotallo proporciona un soporte vital para las hojas en crecimiento y eventualmente sostendrá el racimo de plátanos durante la fase de fructificación. Durante estas 15 semanas, el pseudotallo se fortalece y se desarrolla para soportar el peso de las hojas más grandes y el racimo de frutas que se formará más adelante (InfoAgro, 2023).

En paralelo, las hojas experimentan una expansión considerable durante la fase juvenil. El aumento en el tamaño de las hojas es fundamental para maximizar la capacidad de la planta para realizar la fotosíntesis, ya que hojas más grandes tienen una mayor área de superficie para captar la luz solar. La fotosíntesis es esencial para la producción de nutrientes y energía que la planta necesita para su crecimiento y desarrollo continuo.

Durante esta etapa, el agricultor también debe prestar especial atención a la nutrición y el riego. Dado el rápido crecimiento de la planta en la fase juvenil, es fundamental proporcionar los nutrientes necesarios para respaldar este desarrollo vigoroso. Además, el riego adecuado es esencial para asegurar que la planta tenga suficiente agua para sostener su crecimiento rápido y saludable.

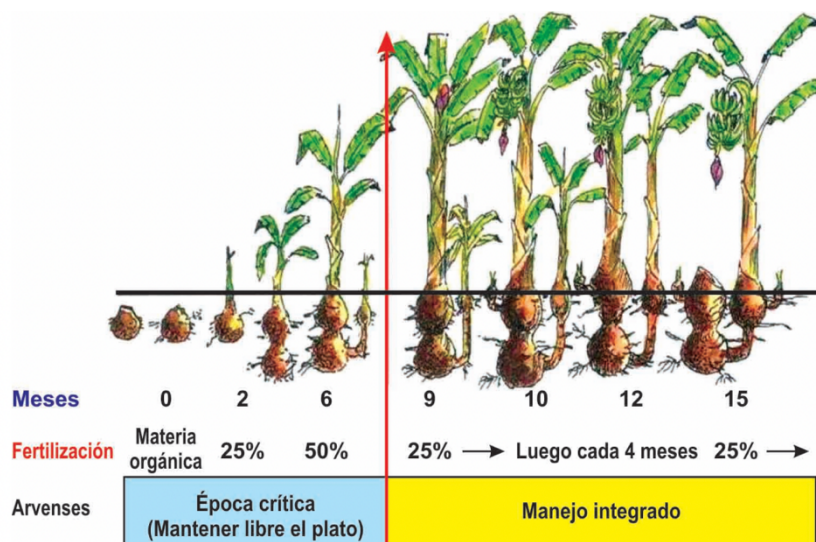
- Fase adulta

La fase adulta, que comprende alrededor de 12 semanas, constituye la última etapa del ciclo de cultivo. Durante esta fase, la planta inicia la producción de racimos de banano y se prepara para la cosecha (Vargas Céspedes et al., 2017a). Un rasgo distintivo de la fase adulta es el inicio de la producción de racimos de banano. Estos racimos, también conocidos como "manojos" o "manos", se desarrollan a partir de la parte superior del pseudotallo y consisten en múltiples frutas. Cada racimo puede contener una cantidad significativa de plátanos, dependiendo de la variedad de banano cultivada. El proceso de formación de los racimos es un logro significativo para la planta, ya que representa la transición de la fase de crecimiento vegetativo a la fase de reproducción y producción de frutas (InfoAgro, 2023).

Durante estas 12 semanas, es crucial brindar un cuidado especial a la planta para garantizar la calidad y cantidad óptimas de los racimos; en el cual se puede observar todas sus fases en la figura 3. Esto incluye una gestión cuidadosa de la irrigación para asegurar un suministro adecuado de agua, así como la aplicación de nutrientes necesarios para respaldar el desarrollo de las frutas (Ácaro, 2019). Además, los agricultores deben prestar atención a la protección de los racimos contra enfermedades y plagas que podrían afectar la calidad de la cosecha (Apolo et al., 2021).

La fase adulta también implica la optimización de las condiciones climáticas para favorecer la maduración adecuada de los racimos (Martínez-Bolaños et al., 2012a). Los plátanos necesitan un clima cálido para alcanzar su madurez óptima, y se debe tener precaución para evitar daños causados por eventos climáticos extremos, como vientos fuertes o heladas (Palencia et al., 2006).

Es esencial destacar que el cultivo del banano demanda la implementación de diversas prácticas recomendadas para la gestión de la plantación (Orozco-Santos et al., 1992). Entre estas prácticas se incluyen la preparación del suelo, la siembra, el apuntalamiento, la fertilización, el control de malezas, la gestión de enfermedades y la regulación de plagas (Vargas Céspedes et al., 2017a).



**Figura 3. Ciclo del cultivo del banano**, la presente imagen se puede evidenciar el tiempo de crecimiento de la planta de banano, desde la época crítica hasta su manejo ya integrado al momento de producir la fruta. (Palencia et al., 2006).

### 2.1.3 Producción bananera

En Ecuador, el banano es reconocido como un producto agrícola de exportación arraigado en la tradición, compitiendo fuertemente con otros países latinoamericanos. (Verdesoto, 2016) El país se sitúa en el primer lugar en esta industria bananera, seguido por Bélgica, Filipinas, Costa Rica y Colombia (Verdesoto, 2016a).

Por otra parte, se destaca que el banano ocupa la cuarta posición como uno de los alimentos más relevantes a nivel mundial, siendo Ecuador el principal exportador con una participación del 29% en el mercado internacional, por lo tanto, el estudio consultado tiene como objetivo analizar la producción y comercialización del banano en la provincia de El Oro durante el período comprendido entre 2018 y 2022, así como evaluar su contribución a la economía nacional (León Ajila et al., 2023a).

En los últimos cinco años, las exportaciones del banano experimentaron un decrecimiento, principalmente debido a los efectos de la pandemia de COVID-19 y a los conflictos en la geopolítica internacional (León Ajila et al., 2023a). A pesar de estos desafíos, la economía se restableció con un crecimiento constante en el año 2021, logrando exportar Ecuador alrededor de 6,411.92 de toneladas y generando ingresos FOB (Free On Board) por un total de \$3,181,532. Para el año 2022, las exportaciones alcanzaron las 6,025.10 toneladas, generando ingresos de \$3,124,220 FOB, lo que representó un decrecimiento del -1.8% tanto en las exportaciones como en los ingresos de divisas generados (León Ajila et al., 2023a).

Es importante destacar que la producción y comercialización de banano desempeñan un papel significativo en la economía del país, proporcionando ingresos y empleo a las familias rurales dedicadas a esta actividad de subsistencia. La actividad bananera contribuye de manera tangible al desarrollo económico, siendo un pilar esencial para el sustento de las comunidades locales (León Ajila et al., 2023a).

La exportación de banano representa actualmente el 2% del Producto Interno Bruto (PIB) general en Ecuador, siendo aproximadamente el 35% del PIB agrícola (Portal Frutícula, 2022). En el país, la producción bananera está principalmente compuesta por pequeñas y medianas empresas, abarcando el 78% del total de productores, siendo estos principalmente emprendimientos familiares (Ácaro, 2019). La contribución de los medianos productores eleva esta cifra al 95,5%, consolidando así la industria bananera como un pilar importante dentro de la Economía Popular y Solidaria (EPS) y generando una considerable fuente de empleo, especialmente en las zonas rurales (Rodríguez et al., 2020).

Las provincias ecuatorianas más destacadas en la producción de banano son Guayas, El Oro y Los Ríos, concentrando el 34%, 41% y 16% respectivamente de los sectores industriales más relevantes del país. En particular, la provincia de El Oro alberga el 42% de los pequeños productores bananeros, mientras que los grandes empresarios del sector se distribuyen mayoritariamente en las provincias Guayas y Los Ríos (Acaro et al., 2021). Según Acaro *et al.* (2021), El Oro y Guayas abarcan conjuntamente el 80% de la superficie cosechada, con un total de 200 mil hectáreas dedicadas al cultivo del banano.

En el año 2002, la provincia de El Oro experimentó importantes pérdidas debido a la presencia de la enfermedad Sigatoka negra y a las lluvias, afectando significativamente a los productores bananeros (Portal Frutícula, 2022). A pesar de ello, la provincia cuenta con la mayor cantidad de haciendas bananeras a nivel nacional, reportándose un total de 5737 haciendas en 2021, de las cuales El Oro concentra más del 41% (Apolo et al., 2021).

La pandemia de Covid-19 también impactó al sector bananero ecuatoriano, ya que más del 10% de las exportaciones del país se destinan a China y el 30% a Europa y Medio Oriente, regiones que cerraron sus fronteras (Portal Frutícula, 2022). A finales de abril, se observó una disminución en el precio de la caja de banano a \$5 dólares, generando un déficit de 1,30 dólares por caja en comparación con el precio mínimo de sustentación fijado por el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), que era de 6,30 dólares (Mata Anchundia et al., 2021).

En los últimos años, el sector bananero ha experimentado avances significativos gracias a la implementación de nuevas tecnologías, como la biotecnología. Esta última ha demostrado ser un motor impulsor crucial para la producción de banano, mejorando el crecimiento de raíces y

los rendimientos de frutas, lo que se traduce en ingresos económicos más sólidos para los productores (Ácaro, 2019).

## **2.2 *Sigatoka negra***

La Sigatoka Negra, una enfermedad foliar altamente destructiva que afecta principalmente a las plantas del género *Musa*, como el banano y el plátano, es causada por el fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis*. Esta patología representa el problema fitopatológico principal en los cultivos de banano y plátano a nivel global (Guzmán & Paladines, 2019).

En la actualidad, la Sigatoka Negra está presente en todos los países dedicados a la producción bananera y se reconoce por su significativo impacto económico (Guzmán & Paladines, 2019). Esta enfermedad no solo reduce los rendimientos de los cultivos, afectando la productividad de las plantaciones, sino que también genera costos considerables para su manejo (Molina et al., 2001). Su presencia continua constituye un desafío persistente para la industria bananera, que se esfuerza por encontrar estrategias efectivas y sostenibles para el control de esta patología que amenaza la estabilidad económica de los productores de banano a nivel mundial (Cercosporioses, 2010).

*Mycosphaerella fijiensis*, reconocido por su estadio anamorfo *Pseudocercospora fijiensis*, se presenta como un hongo sexual heterotálico perteneciente a la clase *Dothideomycetes*, orden *Capnodiales*, y familia *Mycosphaerellaceae*. Su clasificación taxonómica se sustenta en el análisis filogenético del ADN, así como en meticulosos estudios morfológicos y características culturales (Manzo Sánchez et al., 2001).

Este ascomiceto haploide, hemibiotrófico por naturaleza, es una entidad de gran relevancia dentro del "complejo de la enfermedad de Sigatoka". Este complejo incluye también a *M. musicola* (con su anamorfo *P. musae*) responsable de la mancha foliar de Sigatoka y a *M. eumusae* (anamorfo *P. eumusae*), causante de la enfermedad de la mancha foliar de *Eumusae*, anteriormente conocida como enfermedad de la mancha foliar por *Septoria. Musa spp.* sirve como el principal hospedante de *M. fijiensis*, manifestando una variedad de síntomas que varían según los niveles de resistencia de las plantas hospederas individuales (Manzo Sánchez et al., 2001).

Se ha documentado la existencia de más de 60 cepas distintas de *M. fijiensis*, cada una exhibiendo diferentes niveles de capacidad patogénica y se han llevado a cabo la secuenciación, ensamblaje y caracterización inicial del genoma de *P. fijiensis* utilizando la secuenciación completa del genoma de dos aislados diferentes de *P. fijiensis* (Friesen, 2016).

La comprensión detallada de la morfología y las características morfológicas de *Mycosphaerella fijiensis*, así como su posición dentro del complejo de Sigatoka, es esencial para desarrollar estrategias efectivas de manejo y control de esta enfermedad devastadora en los cultivos de banano. Los avances en la genómica también abren oportunidades para la identificación de genes clave relacionados con la patogenicidad, proporcionando nuevas herramientas para abordar esta amenaza en la producción de plátanos a nivel mundial (Herbario virtual, 2015).

Es por eso que, en la práctica del cultivo de banano, uno de los desafíos más significativos surge a raíz del hongo perteneciente a la familia *Mycosphaerellaceae*, conocido como la



sigatoka negra (Carlier et al., 1994). Este fitopatógeno concentra sus efectos adversos principalmente en el follaje del cultivo, ocasionando necrosis y una pérdida considerable de las hojas (Campoverde & Jairo, 2016b).

### 2.2.1 Clasificación Taxonómica de la Sigatoka negra

**Tabla 2.**

*Linaje taxonómico de la Sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis).*

<b>Linaje taxonómico</b>	
<b>Organismo</b>	Organismos celulares
<b>Superreino</b>	Eucariota
<b>Reino</b>	Fungi
<b>Filo</b>	Ascomycota
<b>Subfilo</b>	Pezizomycotina
<b>Clado</b>	Dothideomycetes
<b>Clado</b>	Dothideomycetidae
<b>Clado</b>	Capnodiales
<b>Clado</b>	Mycosphaerellaceae
<b>Clase</b>	Dothideomycetes
<b>Clado</b>	Dothideomycetes
<b>Clado</b>	Dothideomycetidae
<b>Clado</b>	Capnodiales
<b>Orden</b>	Capnodiales
<b>Familia</b>	Mycosphaerellaceae
<b>Subfamilia</b>	Mycosphaerelloideae
<b>Clado</b>	Capnodiales
<b>Tribu</b>	None
<b>Género</b>	<i>Mycosphaerella</i>
<b>Especie</b>	<i>Mycosphaerella fijiensis</i> Morelet

*Nota.* Información de (Schoch et al., 2020).

La afectación de este fitopatógeno a las plantaciones del banano puede ser muy severa afectando principal sus hojas tal como se evidencia en la **figura 4**.



**Figura 4.** *Afectación de la Sigatoka negra a las hojas del banano*, en la imagen se puede observar como el fitopatógeno es visible su afectación a las hojas del banano, lo cual impide el crecimiento del fruto o que crezca en mal estado. Imagen obtenida de Crop-life Latin América (2021).

### *2.2.2 Afectación en los Cultivos a Nivel Mundial*

Esta enfermedad afecta la fotosíntesis de las hojas, lo que conduce a una disminución en la producción de frutas y a una maduración prematura de las mismas. Alrededor del 27% del costo total de una caja de bananos en Centroamérica se destina a la protección de esta enfermedad. Además, se estima que hasta un 5% de la producción total puede perderse a pesar de un número considerable de tratamientos para su control (Stover et al., 1987).

El impacto económico y productivo de la Sigatoka Negra en los cultivos de banano a nivel internacional es significativo, lo que subraya la importancia de desarrollar estrategias efectivas para su manejo y control. El cambio climático también está exacerbando los desafíos asociados con esta enfermedad, ya que puede crear condiciones más favorables para su propagación y desarrollo (Hernández et al., 2016).

En síntesis, la Sigatoka Negra representa una amenaza significativa para la producción de banano a nivel internacional, y su manejo efectivo es crucial para garantizar la seguridad alimentaria y la sostenibilidad de esta importante fuente de alimento y comercio (Stover et al., 1987).

La Sigatoka Negra afecta a los cultivos de banano en todo el mundo, pero se ha informado que su impacto es particularmente grave en América Latina y el Caribe, donde se concentra la mayor parte de la producción de banano a nivel mundial. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Sigatoka Negra es la enfermedad más importante del banano en América Latina y el Caribe, y se estima que causa pérdidas económicas significativas en la región (Hernández et al., 2016).

### *2.2.3 Afectación en los Cultivos a Nivel Nacional*

El cultivo del banano en Ecuador, reconocido como una de las actividades agrícolas más importantes, enfrenta una serie de desafíos considerables derivados de plagas y enfermedades, siendo la Sigatoka Negra una de las más significativas (Valverde, 2019). Su irrupción en el país ocurrió en 1987, reemplazando a la menos severa Sigatoka Amarilla. Desde entonces, esta enfermedad ha dejado una huella significativa en la producción bananera ecuatoriana (Valverde, 2019).

Para el año 1992, la Sigatoka Negra ya se encontraba diseminada en todas las zonas bananeras del país, y su impacto se intensificó progresivamente con el paso del tiempo (Arias & Braulio, 2018). La agresividad de esta enfermedad ha generado consecuencias considerables

para los agricultores, manifestándose en ciclos de aplicación aérea que experimentaron un aumento alarmante del 40 al 100% entre los años 2007 y 2010 en adelante (Verdesoto, 2016b). Este incremento en los ciclos de aplicación no solo refleja la magnitud del desafío, sino también la respuesta intensiva que se ha requerido para combatir la propagación de la Sigatoka Negra (Valverde, 2019).

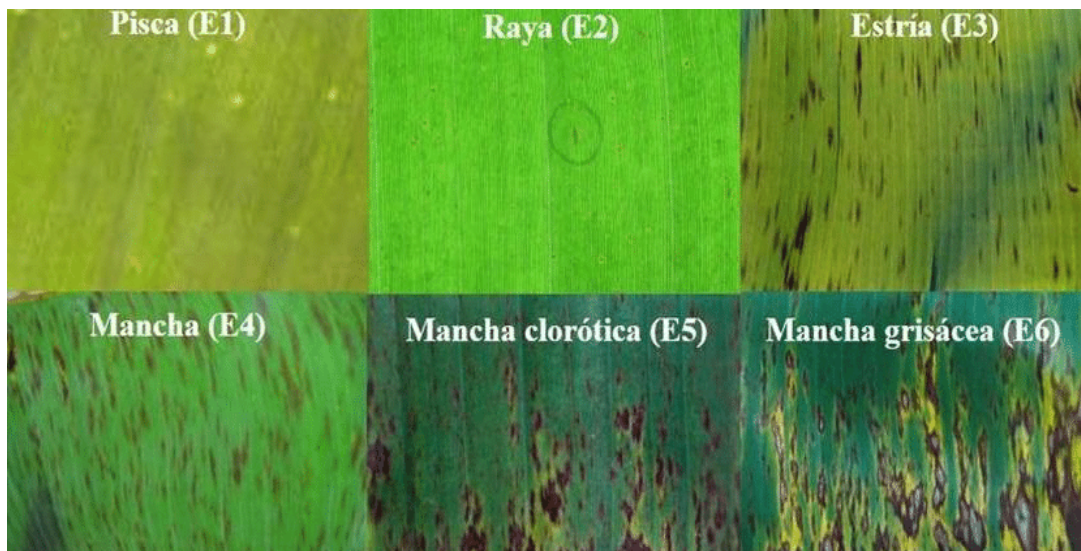
El aumento en los ciclos de aplicación aérea no ha sido el único factor impactante; los costos asociados también han experimentado un crecimiento paralelo, incrementándose en la misma proporción. Este fenómeno económico agrava aún más la carga financiera sobre los productores de banano, creando una dinámica desafiante en la gestión de cultivos (Arias & Braulio, 2018).

En situaciones críticas, la producción de banano puede sufrir pérdidas considerables, oscilando entre el 40 y el 100%. Estas cifras dramáticas resaltan la urgente necesidad de estrategias efectivas de control y manejo de la Sigatoka Negra en Ecuador (Valverde, 2019). La investigación y aplicación de métodos de identificación temprana, así como la búsqueda de variedades resistentes, se presentan como pasos cruciales para mitigar los efectos devastadores de esta enfermedad en los cultivos de banano ecuatorianos. En última instancia, comprender la evolución de esta problemática a lo largo del tiempo es esencial para desarrollar estrategias de manejo más efectivas y sostenibles en el futuro (Robinson & Galán Saúco, 2012).

### ***2.3 Sintomatología de la enfermedad***

La identificación de este fitopatógeno se lleva a cabo mediante la observación de seis etapas distintas (Espinoza, 2015):

En la primera etapa (Estado 1), se observan pequeñas lesiones o puntos de tonalidad blanca-amarillenta a marrón, de aproximadamente 1 mm de longitud, conocidos como pizcas. Estos son apenas perceptibles en el envés de las hojas. En el segundo estado (Estado 2), se visualizan rayas o estrías de color marrón, con longitudes de 3 a 4 mm y un ancho de 1 mm, con características cloróticas. A medida que avanza a la tercera etapa (Estado 3), estas rayas o estrías se alargan y ensanchan, dándoles la apariencia de haber sido trazadas con un pincel. En esta fase, carecen de bordes definidos y adquieren un tono café que puede extenderse hasta alcanzar una longitud de hasta 2 cm. La cuarta etapa (Estado 4) se caracteriza por la aparición de manchas ovaladas de color café en el envés de la hoja, mientras que en el haz presentan un tono negro. En el quinto estado (Estado 5), se forman manchas negras rodeadas por un anillo oscuro, a veces acompañadas de un halo amarillento. En el centro de estas manchas seca y semihundida. Por último, en la sexta etapa (Estado 6), las manchas muestran un centro seco y hundido con un color marrón claro, rodeado por tejido clorótico. Este estado indica una etapa avanzada de la infección por el fitopatógeno en cuestión, tal como se puede observar en la **figura 5**.



**Figura 5.** *Sintomatología de la enfermedad de la Sigatoka negra*, se puede observar cómo inicia el crecimiento y afectación del fitopatógeno. Imagen obtenida de Manejo sostenible del cultivo del plátano, elaborado por (Palencia et al., 2006).

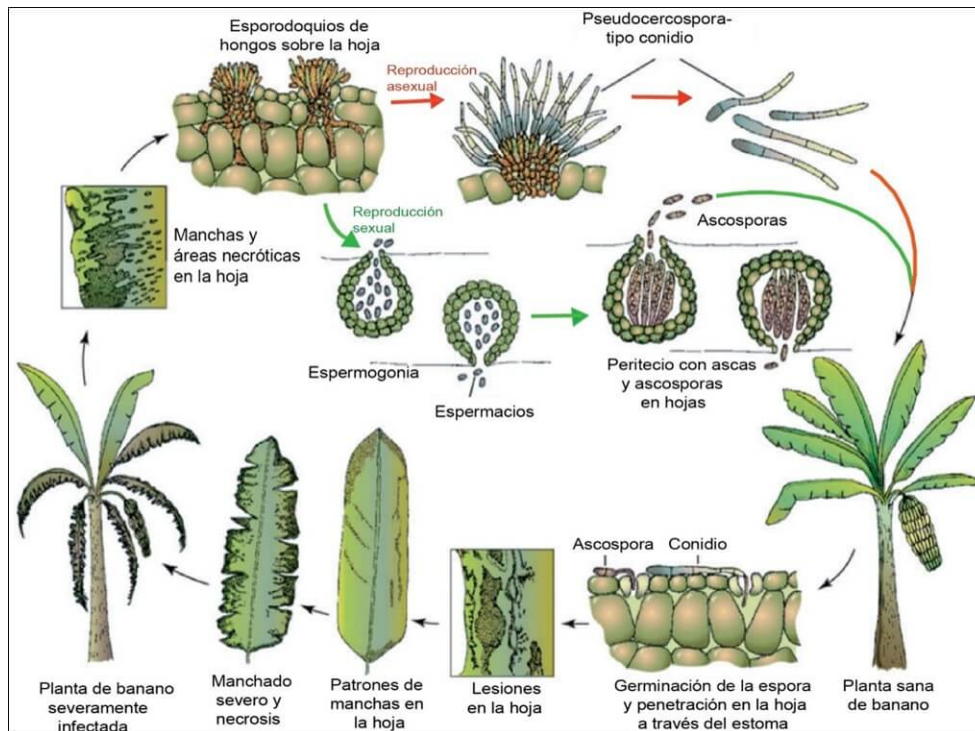
## ***2.4 Reproducción del patógeno***

El fitopatógeno *Mycosphaerella*, según la investigación de (Guzman & Paladines, 2019) presenta tres tipos distintos de cuerpos de fructificación, cada uno con funciones específicas en su ciclo de vida.

El primero de ellos es el peritecio, una estructura reproductiva que alberga las ascosporas, esenciales en la reproducción sexual del hongo. Estas ascosporas se liberan para iniciar nuevos ciclos de infección y propagación (Foundation, 2010). El peritecio, se distingue por su forma semejante a una pera, con una pared gruesa de color café oscuro y un cuello robusto que emerge a través de la estoma de la hoja. Cada uno de estos peritecios puede generar hasta 150 ascosporas, contribuyendo significativamente a la propagación del fitopatógeno en la planta (Marinela, 2014). El peritecio proporciona un ambiente protegido y óptimo para el desarrollo de las ascosporas, que son liberadas al exterior cuando las condiciones ambientales son favorables para su dispersión y germinación.

En segundo lugar, se encuentran los espermogonios, que son estructuras reproductivas que se encuentran en ciertos hongos ascomicetos incluyendo especies de *Mycosphaerella*. Estos espermogonios participan en la etapa inicial de la reproducción sexual del hongo y son los responsables de la producción y liberación de esporas sexuales masculinas llamadas espermas o anteridios. Los espermogonios suelen ser estructuras pequeñas y redondeadas que se desarrollan en la superficie de la planta huésped o en el tejido vegetal infectado. En su interior, se producen numerosas células reproductivas masculinas sin color aparente (León Ajila et al., 2023b). Estos espermas son esporas sexuales haploides que, al madurar, se dispersan

suavemente sobre la superficie de la hoja, ya sea por rocío o lluvia, facilitando la fase inicial del proceso reproductivo, tal como se puede observar en la **figura 6** (Marinela, 2014).



**Figura 6. Ciclo de Vida de *Mycosphaerella fijiensis* en el cultivo de banano,** proceso de infección del fitopatógeno *M. fijiensis* en las hojas del banano, obtenido de (Intagri, 2018).

Por último, los conidióforos son estructuras especializadas de los hongos que producen y portan conidios, que son esporas asexuales los cuales desempeñan un papel crucial en la reproducción y dispersión del hongo (Vargas Céspedes et al., 2017b).

Es importante resaltar que los conidióforos generados por *Mycosphaerella musicola*, se desarrollan y se alojan estratégicamente bajo las estomas de la hoja, esto ocurre a través de un proceso en el que las hifas crecen dentro del tejido de la hoja hasta alcanzar el estoma y una vez allí las hifas, las hifas se desarrollan en conidióforos (Adama, 2023) . Esta ubicación facilita la dispersión de las esporas y, por ende, la posible infección de la planta, marcando así un ciclo de vida importante en la propagación y desarrollo del fitopatógeno *Mycosphaerella* en las



plantas huésped (Rosales et al., 2004b). Estos conidios solo se forman cuando hay presencia de una película de agua en la hoja o cuando la atmósfera está saturada de vapor de agua. Bajo condiciones óptimas, una sola mancha puede generar hasta seis cosechas de conidios en una sola noche si la temperatura es superior a 21°C, antes de que se agote su ciclo de vida (Marinela, 2014).

Esta diversidad morfológica y funcional en las estructuras de fructificación del fitopatógeno *Mycosphaerella* demuestra su adaptabilidad y eficacia en la propagación y colonización en las hojas de las plantas huéspedes, lo que subraya la importancia de su ciclo de vida para su supervivencia y expansión (Adama, 2023).

#### 2.4.1 Identificación de la Sigatoka negra

La identificación de la Sigatoka negra, causada por *Mycosphaerella fijiensis*, generalmente se realiza mediante la observación de los síntomas característicos que afectan a las hojas de las plantas de banano como son las manchas necróticas, lesiones en forma de cigarro, decoloración y amarillamiento y reducción en la producción de frutas. Sin embargo, para confirmar la presencia de la enfermedad, es importante realizar análisis de laboratorio para realizar la identificación de este fitopatógeno. La detección temprana y precisa es fundamental para implementar medidas de manejo y control efectivas que ayuden a limitar la propagación de la enfermedad y reducir sus efectos negativos en los cultivos de banano (Bennett & Arneson, 2005).



En la búsqueda constante de estrategias efectivas para detectar y comprender la Sigatoka Negra, se han llevado a cabo estudios pioneros que utilizan técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional y PCR Tiempo Real (Bennett & Arneson, 2005). Estas investigaciones han explorado polimorfismos mediante RFLP (Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción), microsatélites y multiplex, revelando diferencias sustanciales en la diversidad genética entre especies del mismo género (Regional de la FAO para América Latina el Caribe, 2001). Este enfoque ha permitido analizar las poblaciones de Sigatoka Negra en diferentes países y en áreas específicas de cultivo de banano, proporcionando una comprensión más profunda de la dinámica de la enfermedad y su relación con las condiciones climáticas locales (Carlier et al., 1994).

La aplicación de técnicas como PCR ha demostrado ser altamente sensible, específica, reproducible y confiable en la detección-cuantificación molecular del agente causal de la Sigatoka Negra (*P. fijiensis*). En paralelo, otros métodos moleculares, como los protocolos desarrollados, han permitido la identificación de las primeras etapas de infección mediante pruebas de enzimas conjugadas inmunoabsorbentes (Molina et al., 2001). Estos avances representan un paso significativo hacia la mejora de las estrategias de control y gestión de la Sigatoka Negra, proporcionando herramientas precisas para monitorear y comprender las variaciones patogénicas de esta enfermedad en distintas condiciones ambientales y geográficas (Molina et al., 2001).

Por otra parte, en el ensayo de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ha demostrado ser una técnica inmunoenzimática, que desempeña un papel fundamental en la identificación y monitoreo precoces de la Sigatoka Negra (Orozco-Santos et al., 1992). Al

centrarse en la detección de proteínas específicas del hongo *Pseudocercospora fijiensis*, el ELISA se convierte en una herramienta altamente sensible y específica que permite la evaluación de las primeras etapas de la infección, particularmente en hojas jóvenes de plantas de banano (Regional de la FAO para América Latina el Caribe, 2001).

El proceso de ELISA implica la utilización de anticuerpos específicos que se unen de manera selectiva a las proteínas del patógeno. Esta unión se detecta a través de la actividad enzimática, generando una señal cuantificable que indica la presencia y la intensidad de la infección (Hernández et al., 2016).

La versatilidad del ELISA se extiende a la capacidad de procesar un gran número de muestras de manera simultánea, facilitando la detección a gran escala en entornos agrícolas. Además, su aplicabilidad no se limita únicamente a laboratorios especializados, ya que existen variantes de ELISA de campo que permiten realizar pruebas directamente en las plantaciones, agilizando así el proceso de diagnóstico (Bennett & Arneson, 2005).

## **2.5 Actividad antifúngica**

La actividad antifúngica constituye un campo de estudio crucial en la búsqueda de soluciones efectivas contra las enfermedades causadas por hongos (Grayer & Harborne, 1994). Este fenómeno se refiere a la habilidad de ciertas sustancias para prevenir el crecimiento de hongos o incluso inducir su muerte, puesto que, las plantas representan una invaluable fuente de moléculas biológicamente activas, entre las cuales se destacan diversos metabolitos secundarios con propiedades antifúngicas. Algunos de los compuestos más reconocidos

incluyen flavonoides, fenoles, glicósidos de fenoles, saponinas, entre otros (Grayer & Harborne, 1994). Los antifúngicos, por lo tanto, son agentes terapéuticos diseñados para combatir estas infecciones fúngicas (García, Rivas, & Leones, 2016).

Los antifúngicos operan en diferentes niveles dentro de la célula fúngica, desencadenando una serie de eventos que inhiben el crecimiento y la proliferación de los hongos (Davicino R. , y otros, 2007). Uno de los principales blancos de acción es la pared celular, una estructura esencial para la integridad y resistencia de la célula (Davicino et al., 2007). Los antifúngicos pueden interferir con la síntesis de componentes clave de la pared celular, debilitándola y volviendo vulnerable al organismo fúngico (Gilberto García-Hernández et al., 2016).

La membrana celular es otro objetivo común de los antifúngicos, por lo que, estos agentes pueden afectar la integridad de la membrana, comprometiendo su función y provocando la fuga de componentes esenciales (Gilberto García-Hernández et al., 2016). Al hacerlo, los antifúngicos interrumpen las funciones celulares básicas y llevan al deterioro general de la célula fúngica (Davicino et al., 2007).

Los antifúngicos también desempeñan un papel crucial en la agricultura y la protección de cultivos (Davicino et al., 2007). Las infecciones fúngicas pueden tener un impacto devastador en la producción de alimentos, provocando pérdidas significativas en los rendimientos, es por eso que, en este contexto, los antifúngicos fitofarmacéuticos son empleados para prevenir y controlar enfermedades fúngicas en plantas cultivadas (Gilberto García-Hernández et al., 2016).

Los antifúngicos agrícolas pueden aplicarse de diversas maneras, incluyendo tratamientos foliares, aplicaciones al suelo o tratamientos de semillas (Ruiz, 2013). Estos agentes ayudan a proteger las plantas contra patógenos fúngicos que podrían afectar su crecimiento, desarrollo y calidad. Sin embargo, al igual que en el ámbito clínico, la resistencia a los antifúngicos en los patógenos agrícolas es un desafío emergente que requiere una gestión cuidadosa (Ruiz, 2013).

A pesar de los avances en la investigación antifúngica, persisten desafíos significativos (Centeno & Carrera, 2013). La resistencia a los antifúngicos, tanto en contextos clínicos como agrícolas, destaca la necesidad de estrategias innovadoras (Centeno & Carrera, 2013). La continua investigación en la búsqueda de nuevos antifúngicos, la comprensión de los mecanismos de resistencia y el desarrollo de enfoques terapéuticos más eficaces son áreas críticas para abordar estos desafíos (Ruiz, 2013).

Por otra parte, la consideración de la seguridad y los posibles efectos secundarios en el uso de antifúngicos, tanto en humanos como en el medio ambiente, subraya la importancia de un enfoque equilibrado y sostenible en su aplicación (Ruiz, 2013). Desde su impacto en el tratamiento de infecciones humanas hasta su papel en la protección de cultivos cruciales, estos agentes juegan un papel esencial en la preservación de la salud y la seguridad alimentaria (Ruiz, 2013). Sin embargo, la evolución de la resistencia fúngica plantea desafíos que deben abordarse con creatividad y enfoques multidisciplinarios para garantizar el éxito continuo en la gestión de infecciones fúngicas en diversos contextos (Ruiz, 2013).

### 2.5.1 Agroquímicos contra la *Sigatoka negra*

En la región de Centroamérica y el Caribe, así como en Colombia, Ecuador y México, el cultivo de banano ha emergido como una agroindustria de suma relevancia, destacándose como una de las principales fuentes de ingresos y empleo (Adama, 2023). Esta actividad no solo contribuye significativamente a la economía de estos países, sino que también desempeña un papel esencial en el suministro global de alimentos (Baena, 2020).

A pesar de su importancia, la industria bananera se enfrenta a diversos desafíos cruciales que requieren una atención cuidadosa. Garantizar la seguridad alimentaria a nivel mundial es uno de los objetivos fundamentales, y para lograrlo, es imperativo abordar los retos específicos que enfrenta esta industria (Mena & Cough, 2015).

El cultivo y la comercialización del banano enfrentan desafíos como enfermedades de las plantas, cambio climático, prácticas agrícolas sostenibles, y cuestiones relacionadas con la cadena de suministro. La gestión eficiente de estos desafíos no solo asegura la continuidad de la producción de banano, sino que también contribuye a mantener la estabilidad económica y a preservar los medios de vida de aquellos que dependen de esta industria (Mena & Cough, 2015).

En el control de la *Sigatoka negra*, se utilizan fungicidas tanto de contacto como sistémicos. En el caso de México, se han empleado fungicidas como mancozeb, clorotalonil, propiconazol y tridemorf para el manejo de esta enfermedad, ya que estos fungicidas son aplicados de manera profiláctica o terapéutica, lo que significa que se aplican preventivamente o en respuesta a la presencia de la enfermedad (Martínez-Bolaños et al., 2012b).

El uso frecuente de estos fungicidas puede aumentar el riesgo de desarrollo de resistencia en las poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis*, lo cual representa un desafío significativo para la industria bananera. La resistencia a los fungicidas puede limitar la eficacia de los programas de manejo integrado de la enfermedad, lo que a su vez puede resultar en un aumento en las dosis o frecuencias de aplicación de los fungicidas, con el consiguiente aumento en los costos económicos y el riesgo ambiental (Martínez-Bolaños et al., 2012b).

## ***2.6 Controles biológicos contra la Sigatoka negra***

Los controles biológicos contra la Sigatoka negra implican el uso de organismos vivos o derivados de estos para reducir la población del patógeno o limitar su impacto en los cultivos del banano. Aunque en comparación con los fungicidas químicos, los controles biológicos pueden ser menos comunes o utilizados en la actualidad, hay algunas estrategias que pueden ser efectivas contra este fitopatógeno como es el uso de otros microorganismos antagonistas o el uso de extractos vegetales y productos naturales con propiedades antifúngicas (Esperanza et al., 2012).

El manejo biológico de la Sigatoka negra presenta desafíos significativos debido a diversos factores. Estos incluyen la agresividad inherente del patógeno, la naturaleza cíclica de la enfermedad, la elevada susceptibilidad de los clones utilizados en las plantaciones, la presencia de plantas en diversos estados de desarrollo simultáneamente y la producción continua de tejido propenso a la infección, con la generación de una nueva hoja cada 6 - 10 días (Esperanza et al., 2012; Quiroga, 2021).

Históricamente, el control biológico de la Sigatoka negra ha recibido una atención limitada. Esto se debe en parte a la disponibilidad de fungicidas altamente efectivos y al escaso interés en la exploración de alternativas, además de la falta de respaldo económico para la investigación en este ámbito (Apolo et al., 2021). Sin embargo, el surgimiento de cepas del patógeno resistente a fungicidas sistémicos y la creciente necesidad de prácticas agrícolas más sostenibles han generado un renovado interés en el control biológico.

### *2.6.1 Extractos Vegetales*

Los extractos vegetales y productos naturales, como su nombre indica, son derivados directos de diversas partes de las plantas, tales como frutas, hojas, semillas o raíces. (Tecnaal, 2019). Estos compuestos, obtenidos mediante métodos de extracción que preservan su naturaleza original, albergan una compleja amalgama de sustancias bioactivas que han capturado a lo largo del desarrollo natural de la planta (Tecnaal, 2019).

Los extractos vegetales, al ser productos derivados directamente de la naturaleza, presentan una diversidad de compuestos bioactivos con potencial actividad antifúngica (Centeno & Carrera, 2013). La riqueza bioquímica de los extractos naturales puede ofrecer mecanismos de acción únicos y específicos contra los hongos patógenos, sin los riesgos asociados con el uso indiscriminado de fungicidas químicos (Centeno & Carrera, 2013). Al considerar el impacto medioambiental y la resistencia de los patógenos a los tratamientos convencionales, la investigación de extractos vegetales se posiciona como una estrategia innovadora y respetuosa con el entorno agrícola (Centeno & Carrera, 2013).

Estos extractos no solo tienen impacto en la propia planta, manifestándose como bioestimulantes que favorecen el desarrollo y como agentes de defensa contra factores tanto bióticos (plagas y enfermedades) como abióticos (heladas, estrés hídrico, etc.) (Morera, 2020). Entre las numerosas sustancias identificadas en estos extractos, tales como fenoles, alcaloides, terpenoides y diversos metabolitos secundarios, se ha explorado en profundidad el efecto que ejercen en las plantas (Morera, 2020). No obstante, el potencial de estas sustancias no deja de expandirse, ofreciendo un campo fértil para la investigación y la aplicación práctica en la agricultura (Morera, 2020).

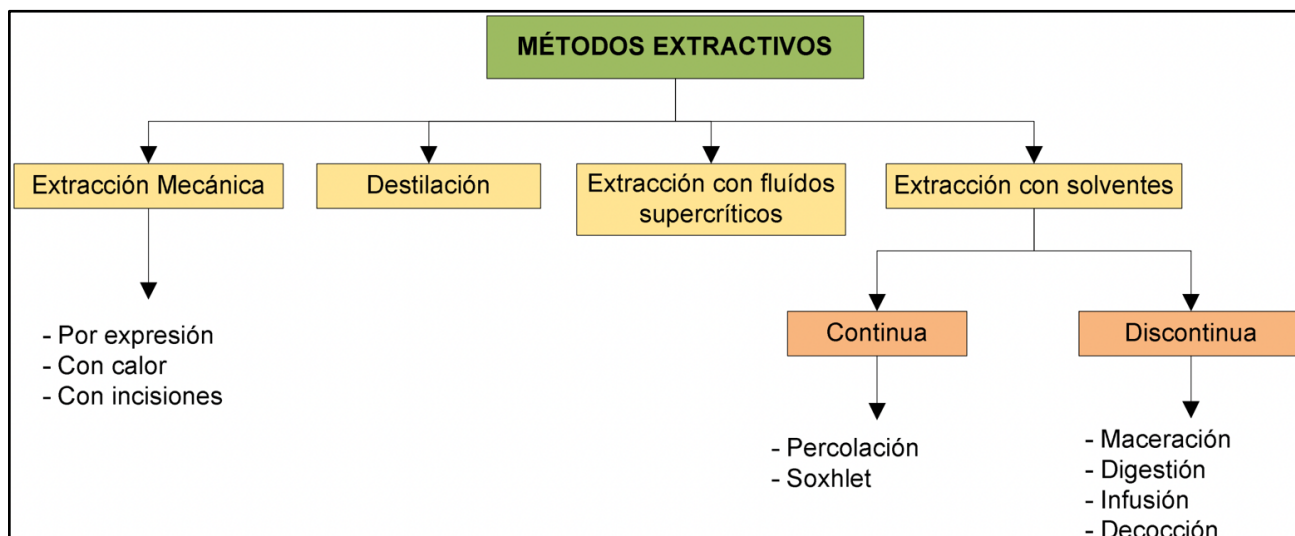
Los extractos vegetales pueden aplicarse en forma de soluciones acuosas, extractos oleosos o polvos, y pueden ser empleados solos o en combinación con otros productos naturales para mejorar su eficacia y seguridad en condiciones reales antes de su aplicación generalizada en el control de fitopatógenos (Tecnaal, 2019).

### *2.6.2 Obtención de Extractos Vegetales*

La obtención de extractos vegetales es un proceso diverso que puede realizarse a partir de plantas frescas, secas, semi-secas o fermentadas, empleando distintas técnicas según las características deseadas del producto final (Dimefar, 2021). Este proceso implica la separación de sustancias, resultando en dos componentes principales: el extracto en sí y el residuo, conocido como bagazo (Dimefar, 2021).

Entre los métodos tradicionales se encuentra la siguiente clasificación, tal como se muestra en la **figura 7**.





**Figura 7.** Clasificación de los métodos de obtención de extractos vegetales, obtenido de (Kuklinski Kopi, 2003).

- Extracción Mecánica: Se trata de aplicar presión sobre la droga vegetal para extraer un jugo que contiene los componentes de interés disueltos. También se puede llevar a cabo mediante cortes que permiten la caída de los fluidos de la planta (Osorio, 2009).
- Destilación: Esta técnica aprovecha la diferente volatilidad de los principios activos de la planta para separar los componentes volátiles, como los aceites esenciales, de aquellos menos o nada volátiles (Santana, 2014).
- Extracción con fluidos supercríticos: Implica colocar material vegetal molido en una cámara de acero inoxidable y hacer circular a través de la muestra un fluido en estado supercrítico (Sánchez Peña et al., 2014).
- Extracción con solventes: Consiste en poner la planta en contacto con uno o más solventes capaces de disolver los principios activos, permitiendo su separación (Pérez, 2009).

- Extracción Continua o Progresiva: En este método, el solvente se renueva o recircula y actúa sobre la planta en una única dirección. La percolación es una técnica que consiste en que el líquido solvente (ya sea alcohol puro o una mezcla hidroalcohólica) pasa a través de la droga pulverizada en una sola dirección, donde la droga se impregna con nuevas porciones del solvente y libera todos sus componentes solubles, la re-percolación se centra en el proceso de volver a pasar el mismo solvente a través del material vegetal de manera repetida o continua. Y por último el método soxhlet es una técnica que se enfoca en la extracción sólido-líquido utilizando un dispositivo Soxhlet cuya función principal es recircular los vapores condensados. que entran en esta categoría (Sharapin, 2000)
- Extracción Discontinua o Simultánea: Son la forma más común de obtener extractos vegetales mediante el uso de solventes, que pueden ser agua, mezclas hidroalcohólicas, glicoles o disolventes orgánicos. La maceración, un proceso donde la planta molida reposa en contacto con el solvente a temperatura ambiente durante tres a diez días, es una técnica ampliamente utilizada. Una variante es la digestión, que implica el reposo a una temperatura superior (Conjunto Lar, 2022). La infusión, conocida por muchos, se logra al hervir el solvente y sumergir la planta, seguido de un enfriamiento a temperatura ambiente (Conjunto Lar, 2022). Por otra parte, en la digestión, se emplea en ciertas plantas que contienen principios activos difíciles de extraer, ya sea porque se encuentran en las partes leñosas de la planta o porque necesitan un tratamiento prolongado de calor.

Tanto la infusión como la decocción utilizan el agua como solvente. En el caso de la decocción, se cubre la materia prima con el solvente y se lleva a ebullición durante unos 15 o 30 minutos, seguido de un proceso de filtrado (Conjunto Lar, 2022).

Esta variedad de métodos no solo refleja la diversidad de las plantas y sus componentes, sino que también resalta la importancia de elegir la técnica más adecuada para obtener extractos con propiedades específicas y aplicaciones particulares (Conjunto Lar, 2022).

## CAPÍTULO III.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### *3.1 Metodología de la investigación*

En el presente trabajo se llevó a cabo con un enfoque descriptivo y experimental, de forma que se analizó el extracto etanólico de la especie vegetal *Heliotrpium indicum*, de forma que se identificaron los metabolitos secundarios presentes en tallos, hojas y ramas, y estos resultados se correlacionan con la capacidad que poseen estos extractos de inhibir el crecimiento del fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis*, para establecer si los metabolitos secundarios presentes poseen propiedades antimicrobianas que puedan tener alto potencial de aplicaciones a nivel biotecnológico de los extractos estudiados.

#### *3.2 Variables*

En el marco de la investigación, se identifican dos variables fundamentales que proporcionaron datos cualitativos, los cuales permitirán una mayor comprensión en relación con la especie vegetal recolectada.

##### *3.2.1 Variable Dependiente*

Se midió la presencia y cantidad de compuestos bioactivos en la especie vegetal. Esta variable está estrechamente relacionada con los resultados del tamizaje fitoquímico, ya que se hace referencia a la presencia o ausencia de ciertos compuesto en el extracto vegetal.

Del mismo modo la evaluación antifúngica del extracto vegetal se llevó a cabo en función de las propiedades inhibitorias a partir de la extracción etanólica de la especie vegetal, observando como esta variable cambia o se presenta en relación con el análisis de la muestra.

### *3.2.2 Variable Independiente*

El proceso de recolección de la especie vegetal se desarrolló como variable independiente en virtud de que se manipuló el espécimen por medio de la herborización y el tamizaje fitoquímico para poder evaluar su efecto antifúngico. Con respecto al extracto utilizado se eligió el etanol como parte del proceso de extracción de los metabolitos secundarios, para posteriormente realizar el tamizaje.

### *3.3 Recolección de datos*

La recolección de datos en este estudio abarcó desde la investigación del estado del arte, donde se consultó información bibliográfica de artículos y publicaciones científicas del área de estudio, así como también información obtenida de repositorios, herbarios, bases de datos e investigaciones previas. Se recopilaron datos correspondientes al resultado de la experimentación in situ en la obtención de muestras de la especie vegetal y del fitopatógeno, además de los análisis fitoquímicos y antifungicos registrados con cámara fotográfica, bitácora para registrar resultados obtenidos y el uso de computador para la redacción del manuscrito del trabajo final de grado.

### 3.4 Protocolos

#### 3.4.1 Recolección y Herborización de la Especie Vegetal

Se realizó la recolección de la especie vegetal en su hábitat natural, el sitio de recolección corresponde al Campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana, Km 19 de vía a la costa, en la ciudad de Guayaquil – Ecuador, en las coordenadas 2°11'47.4''S 80°02'36.1W., como se indicó en la **figura 1**.

La recolección se llevó a cabo en dos fases, en la primera fase se recolectaron tres muestras, en las cuales se podían visualizar las características morfológicas de sus hojas, organización, estructura, y se procedió a herborizar cada una de las muestras, con la finalidad de estudiar sus estructuras y realizar una comparación bibliográfica con muestras presentes en repositorios digitales de herbarios a nivel internacional para realizar una identificación adecuada de la especie. Durante la segunda fase se obtuvieron seis muestras de las hojas, tallos, ramas de la especie, destinadas a la obtención de extractos etanólicos para su posterior estudio fitoquímico y antifúngico.







Una vez recolectada la especie vegetal, tal como se muestra en la **figura 8**, se procedió con su identificación, para lo cual se utilizó la aplicación Plantnet la cual confirmó que la muestra recolectada si pertenece a la especie vegetal *Heliotropium indicum* (Cola de alacrán), así como se evidencia en la **figura 9**. Posteriormente se procedió con el desecado de la especie vegetal, para lo cual se utilizó varios pliegos de papel periódico, sobre los cuales se colocó la planta entera y se la cubrió con otro pliego de periódicos. Una vez cubierta la planta se ejerció presión sobre ella durante 24 horas utilizando una tabla de madera; para lo cual se utilizó como apoyo

bibliográfico el libro “*Botánica, morfología, taxonomía y fitogeografía*” el cual ayudó a corroborar la especie vegetal recolectada (Troiani et al., 2017).



Figura 8. *Especie vegetal recolectada*, imagen tomada por Erazo, Vivian.

***Heliotropium indicum* L.**  
Alacranillo Boraginaceae 4.61%

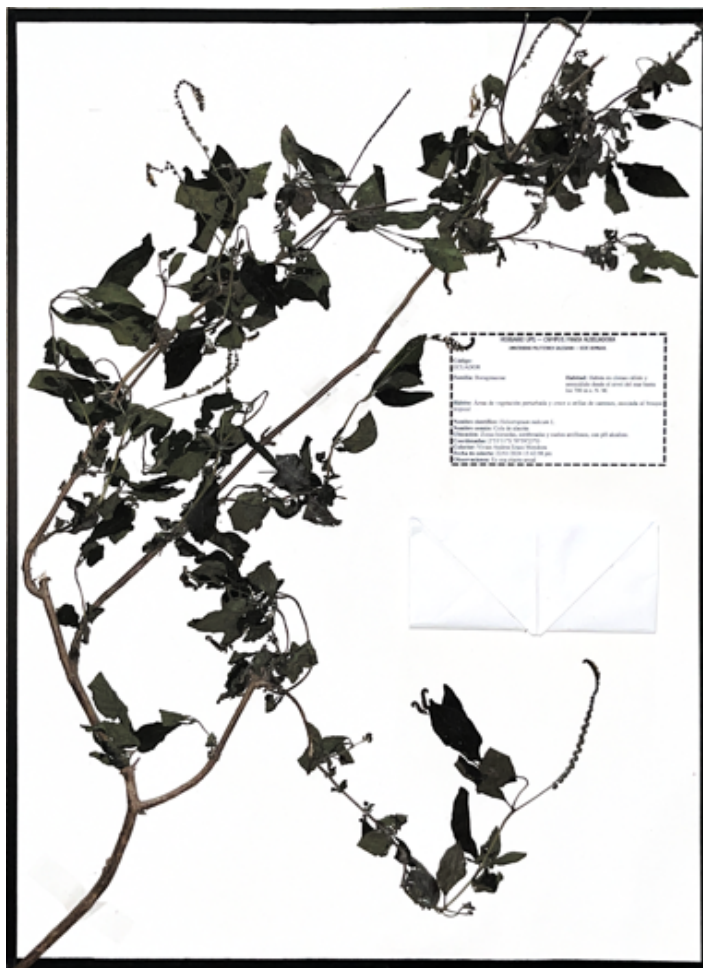
[↔ Comparar fotos](#)    Es la especie correcta

Figura 9. *Verificación de la especie vegetal recolectada*, obtenido de Plantnet.

Pasadas las 24 horas, una vez que el espécimen está totalmente seco, se fijó la planta sobre una cartulina tamaño A3, este procedimiento se realiza empleando trozos pequeños de cinta adhesiva o hilo junto con una aguja para garantizar la fijación. Las partes grandes de la planta, como las semillas de frutos secos, los conos, etc., se secan sin aplicar presión y se disponen en sobres pequeños denominados paquetes de fragmentos.

Para preservar de manera óptima los especímenes montados, se almacenaron a una temperatura controlada de 20°C con el fin de evitar la proliferación de hongos, la degradación de la planta y prevenir la presencia de insectos. Además, se distribuyeron esferas de naftalina dentro de los archivadores metálicos.

Por último, una vez que planta ya está totalmente fijada en la cartulina A3 se realizó el proceso de etiquetado de sus partes, se colocó una etiqueta en sus raíces, tallo, hojas y flor; para posteriormente realizar el cuadro de su taxonomía y demás información de interés de la especie vegetal, tal como se observa en la **figura 10**.



**Figura 10.** *Herbario de la especie vegetal recolectada*, hecho por Erazo, Vivian.



### *3.4.2 Limpieza y desinfección*

En el laboratorio se procedió con la limpieza del material vegetal recolectado, se realizó un lavado inicial con 5 litros de agua destilada, para poder desinfectar de cualquier impureza las muestras vegetales.

### *3.4.3 Protocolo para la Obtención de Extractos Etanólicos*

Una vez obtenido el material vegetal limpio, se colocó papel periódico para que se secaran a temperatura ambiente en el laboratorio, luego de eso se realizó la separación de cada parte de la planta, en bolsas de papel, se colocaron etiquetas de las hojas, tallos y ramas. Como siguiente paso se depositó las muestras en la estufa (Thermo Scientific, modelo: Heratherm, 230 VCA, 50/60 Hz) a una temperatura de 40°C durante 72 horas, durante este proceso se priorizó un secado completo de todas las muestras vegetales.

Posteriormente se continuó con la trituración utilizando un mortero, y una vez terminado, se pesó el material triturado y se obtuvo 25 gramos de cada una de las partes (hojas, tallos y ramas) pulverizadas, dando como resultado una muestra homogénea, con la cual se trabajó en la elaboración de los extractos etanólicos correspondientes procurando un óptimo nivel de rendimiento en los análisis fitoquímicos y antifúngicos.

Las muestras pulverizadas fueron sometidas a extracción mediante el método de maceración en frío durante 3 horas utilizando tres agitadores de placas calefactoras (Thermo Scientific, modelo: Cimarec+), para lo cual se utilizaron tres vasos de precipitación de 250 ml colocando

por separado cada muestra vegetal obtenida; luego se utilizó 150 ml de etanol al 80% como disolvente (Cervantes et al., 2020). Los extractos resultantes fueron filtrados mediante papel Whatman n.º1, los cuales fueron depositados dentro de frascos ámbar de 250 ml los cuales fueron respectivamente rotulados; y estos fueron almacenados en una refrigeradora a 4°C durante 24 horas.

Luego, se procedió a secar los extractos utilizando un rotavapor (Heidolph, modelo: Hei-VAP Core) bajo condiciones de vacío y a una temperatura de 40 °C, con una rotación de 110 rpm y la presión de vapor en 175 mbar (Quiroga, 2021). Se dejó cada extracto durante 30 minutos cada uno, posteriormente luego de evaporarse se disolvió con 10 ml de etanol al 80% para poder obtener los extractos finales de las hojas, tallos y ramas. Estos extractos obtenidos se almacenaron en frascos ámbar de 250 ml dentro de la refrigeradora a una temperatura de 4 °C hasta su utilización posterior en los análisis fitoquímicos (Gepp, 2009).

Como se observa en la **figura 11**, este es el esquema metodológico que se utilizó para poder obtener los extractos etanólicos de diferentes partes de esta especie vegetal que se propuso analizar y en la **tabla 3** se mencionan los materiales, equipos y reactivos.

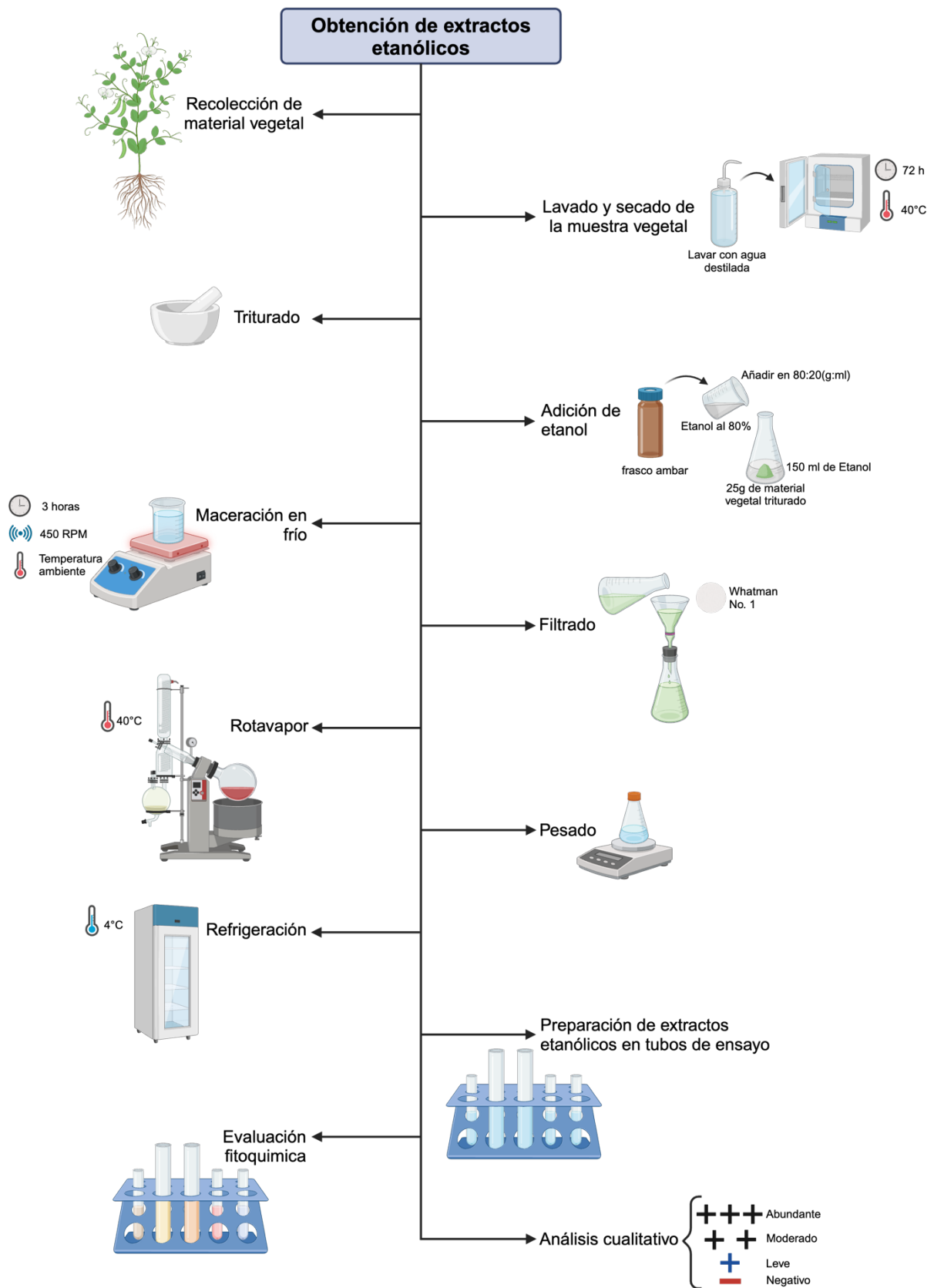


Figura 11. Esquema metodológico sobre obtención de extractos etanólicos y evaluación fitoquímica. Creado en Biorender, por Erazo, Vivian.

**Tabla 3.***Materiales y Equipos*

<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Material vegetal <i>Heliotropium indicum</i> (75gr – 100gr)	Estufa	Agua destilada
Vasos de precipitación (50, 100 y 250 ml)	Plancha calentadora	Agua tipo 1
Matraces Elenmeyer (50, 100 y 250 ml)	Rotavapor	Jabón neutro
Probeta (10, 1000 ml)	Balanza analítica	Etanol al 80%
Mortero	Refrigeradora	Reactivo mayer
Gradilla para tubos de ensayo	Autoclave	Reactivo de dragendorf
Tubos de ensayo 10 ml (200 tubos)	Cámara de flujo laminar	Reactivo de Wagner
Filtros Whatman No. 1	Incubadora	Reactivo de hager
Frascos ámbar	Microscopio óptico 40X	Reactivo de Fehling
Agitador magnético		Reactivo benedict
Agitador de vidrio		Reactivo de biuret
Parafilm		Ácido clorhídrico
Embudo		Ácido sulfúrico
Papel aluminio		Ácido pírlico
Papel absorbente		Cloroformo
Papel periódico		Agua estéril
Pipetas y puntas (100ul, 200 ul, 1000ul)		Etanol al 70%
Cinta de magnesio		Hipoclorito de sodio al 1%
15 cepas de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> (Aislado de <i>Musa spp.</i> )		
15 cajas Petri de vidrio		
25 cajas Petri de plástico		
1 contenedor de plástico		
Cristalizadores grandes		
Pliego de papel filtro		
Mechero		
Bisturís y pinzas estériles		
Frasco hueco 250 ml		
Recolector de imán		
40 gr medio de cultivo: Agar desxtrosa sabouraud (ADS)		
Tubo falcon (50 ml)		

**Nota:** Elaborado por Erazo, Vivian.

#### 3.4.4 Protocolo del Tamizaje Fitoquímico

Se utilizaron metodologías para poder obtener resultados cualitativos, los cuales demostraron si hubo presencia de diferentes metabolitos secundarios en: abundancia (+++), moderado (++) , leve (+) o ausencia (-), se realizaron las pruebas de: Alcaloides con sus test de Mayer, Dragendorft, Hager y Wagner; Saponinas con su test del Peróxido; Flavonoides con sus test de Shinoda y Ácido Sulfúrico; Cumarinas con su test de Hidróxido de potasio; Carbohidratos y su test de Benedict y por último la prueba de Proteínas con su test de Terpenoides. En cada test se realizó un duplicado de cada extracto vegetal para evaluar su efectividad y de este modo se observaron cambios en el extracto y se pudo comprender mejor la composición del extracto etanólico cola de alacrán (Morales Romero et al., 2011).

- Prueba de alcaloides: Se incorporó tres gotas de ácido sulfúrico concentrado, seguido de un calentamiento en un baño termostático durante un período de 3 minutos. Este procedimiento inicial es esencial para activar las reacciones pertinentes antes de llevar a cabo las pruebas presuntivas, asegurando así condiciones óptimas para la detección y análisis de las sustancias de interés (Salcedo-Pérez et al., 2014).

- Test de Mayer

En la realización de la prueba, se dispuso de dos tubos de ensayo de 10 ml donde se combinan tres gotas del extracto vegetal, y tres gotas del reactivo *Mayer* (Aronés-Jara et al., 2022a). La interpretación del resultado se establece considerando la formación de un precipitado turbio, y este será reportado como positivo (Cruz-Sosa et al., 2019).

- Test de Dragendorff

Se introdujo en dos tubos de ensayo de 10 ml tres gotas del extracto y tres gotas del reactivo, se reportará como positivo cuando se forme un precipitado de color naranja (Cruz-Sosa et al., 2019).

- Test de Hager

Se añadió en dos tubos de ensayo de 10 ml tres gotas del extracto y tres gotas del reactivo. Se reportará como positivo cuando se forme un precipitado amorfo por mezclarse con la solución de alcaloides en ácido diluido (Manzo Sánchez et al., 2001).

- Test de Wagner

El procedimiento consiste en depositar tres gotas del extracto y tres gotas del reactivo en dos tubos de ensayo de 10 ml. Se reportará como positivo cuando se forme un precipitado floculento color marrón por mezclarse con solución de alcaloides en ácido diluido se considera positiva (Aronés-Jara et al., 2022b).

- Prueba de saponinas:

- Test de Peróxido

En dos tubos de ensayo de 10 ml, se agregaron 3 gotas del extracto con 2 gotas de peróxido de hidrógeno. Luego se agitó constantemente mientras se calentaba a 40 °C. Posteriormente se valoró la presencia de saponinas y su concentración de acuerdo con la aparición de espuma (Foy Valencia et al., 2005).

- Prueba de flavonoides:

- Test de Shinoda

En dos tubos de ensayo de 10 ml, se agregó tres gotas del extracto, dos cm de cinta de magnesio y 4 gotas de ácido clorhídrico concentrado (Cruz-Sosa et al., 2019). Se realizó este procedimiento en una campana de extracción (Aronés-Jara et al., 2022a). La clasificación del metabolito secundario se determinó por la coloración de la reacción, como se indica en la **tabla 4**.

**Tabla 4.**

*Clasificación del metabolito secundario*

<b>Flavonoides</b>	<b>Rx coloración</b>
Flavonas	Naranja
Flavonoides	Rojo
Flavonoles	Rojo azulado
Flavononas	Verde
Flavononoles	Verde azulado
Xantanos	Violeta

*Nota:* Elaborado por Erazo, Vivian.

- Test de Ácido Sulfúrico

Se colocó en dos tubos de ensayo de 10 ml, 3 gotas de extracto y 3 gotas de ácido sulfúrico grado reactivo (concentración > 98%) (Salcedo-Pérez et al., 2014). Se identificó el tipo de metabolito secundario según la coloración de la reacción de acuerdo con la siguiente **tabla 5**.

**Tabla 5.***Clasificación del metabolito secundario*

<b>Flavonoides</b>	<b>Rx coloración</b>
Chalconas	Rojo azulado
Auronas	Rojo-guinda
Flavonas	Amarillo intenso
Flavononas	Naranja o guinda
Flavonoles	Amarillo intenso

*Nota:* Elaborado por Erazo, Vivian.

- Prueba de Cumarinas:

- Prueba de Hidróxido de potasio (KOH)

En dos tubos de ensayo de 10 ml se agregó 3 gotas del extracto y 3 gotas del KOH al 5% (Aronés-Jara et al., 2022b). La presencia de cumarinas se identifica mediante el cambio de color de fuerte a tenue de rojo a amarillo.

- Prueba de Carbohidratos:

- Test de Benedict (Vijaya)

Se tomó 2 ml del extracto vegetal y se mezcló con 0.5 ml del reactivo, se calentó en un baño de agua hasta alcanzar el punto de ebullición durante 2 minutos (Aronés-Jara et al., 2022b). La presencia de un precipitado de color distinto confirma la existencia de azúcar.



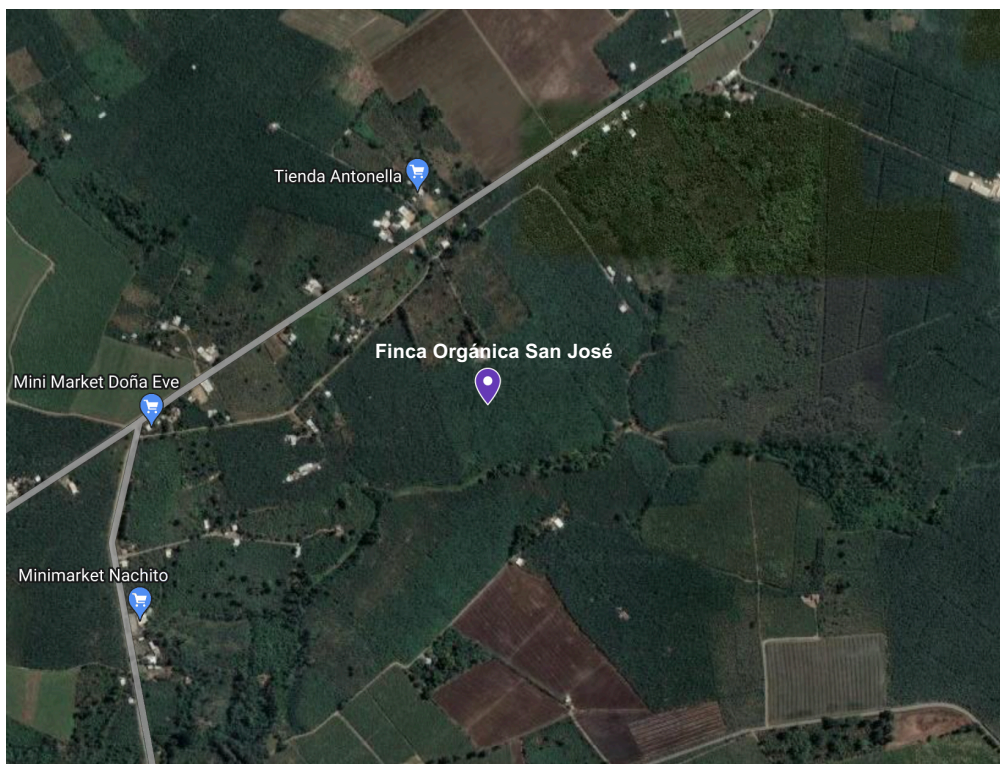
- Prueba de Proteínas:

- Test de Terpenoides

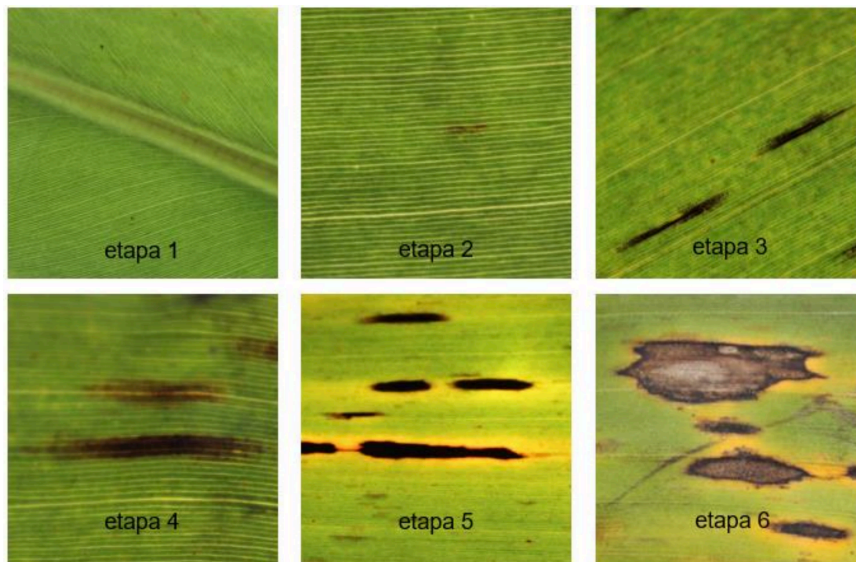
Se mezcló 1 ml de extracto con una solución compuesta por 1.5 ml de ácido sulfúrico fuerte y 1 ml de cloroformo (Salcedo-Pérez et al., 2014). La existencia de terpenoides fue sugerida por el tinte rojizo-marrón.

#### 3.4.5 Prueba de Inhibición (Difusión en Agar)

Para el aislamiento de *M. fijiensis*, se recolectó material vegetal en una hacienda bananera localizada en la ciudad de Milagro, en la provincia del Guayas – Ecuador, tal como se observa en la **figura 12**. Se recolectaron muestras de tejido vegetal que exhibían síntomas de la enfermedad conocida como Sigatoka Negra en sus fases 5 y 6, tal como se puede ver en la **figura 13** (Quiroga, 2021). De cada grupo de 10 plantas, se seleccionaron aproximadamente muestras de 10 centímetros del tercio medio de la octava hoja, contando desde la parte superior hacia abajo, considerando la primera hoja como la hoja principal (Gepp, 2009). Estas muestras fueron cuidadosamente empaquetadas en bolsas plásticas dobles estériles, posteriormente selladas y colocadas dentro de bolsas de papel, las cuales fueron debidamente etiquetadas y transportadas al laboratorio para su posterior aislamiento (Guerrero-Rodríguez et al., 2007).



**Figura 12.** Localización satelital de la hacienda de banana, *Finca Orgánica San José*, ubicada en Milagro, obtenida de Google Maps, coordenadas 2,13391° S, 79,48328° O.



**Figura 13.** Estadios de la *Sigatoka negra*, obtenida de (Carrión, 2020).

Se inició desinfectando el área de trabajo con alcohol al 70%, luego se procedió a desinfectar un contenedor plástico de 2.8 litros con hipoclorito de sodio al 10% y con alcohol al 70%. Posteriormente se utilizó la cámara de flujo laminar (Thermo Scientific, modelo: 1300 SERIES

A2) con rayos UV (ultravioleta) para esterilizar por completo el contenedor plástico durante 15 min. Una vez desinfectado el contenedor plástico, se procedió a desinfectar 4 toallas de papel siguiendo el mismo procedimiento de la cámara de flujo laminar. Después de que se desinfectaron los materiales, se colocaron las toallas de papel dentro del contenedor de plástico, mientras que, se autoclavaban cuatro cajas petri de vidrio, una tijera quirúrgica, dos pinzas y un mango del bisturí, durante 1 hora. Luego se colocaron 2 mecheros alrededor del contenedor plástico, mientras se cortaban diez pedazos en forma de ovalo de las hojas de banano con el fitopatógeno presente. Se colocaron los trozos dentro de las cajas petri las cuales fueron distribuidas a su vez dentro del contenedor de plástico en el cual se humedeció las toallas de papel con 150 ml de agua estéril y así mismo se añadieron 3 gotas en cada caja petri sin mojar los pedazos de hojas con el fitopatógeno presente.

Las muestras se mantuvieron almacenadas dentro de la cámara húmeda, la cual fue sellada, envuelta con papel aluminio y debidamente etiquetada, para que posteriormente esta se introdujera dentro de la incubadora (memmert, modelo: IPP 55) a una temperatura de 27 °C durante un periodo de 24 horas. Luego, se verificó la presencia de crecimiento micelial en las muestras de hojas de banano mediante la observación bajo un microscopio óptico (BOECO Germany, modelo: BM - 300) con un aumento de 40X. Se examinaron fragmentos de hojas de 7 x 7 centímetros en etapa 6 de Sigatoka negra observando la superficie adaxial (Quiroga, 2021).

Aquellas muestras en las cuales hubo presencia de peritecios fueron sometidas a un proceso de lavado con agua corriente durante 1 minuto (Gepp, 2009). Después, los fragmentos de hojas se sumergieron en agua estéril durante 20 minutos y se dejaron escurrir sobre papel filtro estéril

para eliminar el exceso de agua (Peñuelas-Rubio et al., 2015). Posteriormente, se realizó el proceso de desinfección con una solución de etanol al 70% e hipoclorito de sodio al 1% durante 8 minutos; para poder calcular la proporción del hipoclorito de sodio del 10% al 1% se utilizó la siguiente ecuación:

***Formula***

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

***Datos:***

$$C1 = 10\% \text{ (Hipoclorito de sodio)}$$

$$V1 = ?$$

$$C2 = 1\% \text{ (Volumen de la solución a preparar)}$$

$$V2 = 100 \text{ ml}$$

***Resolución:***

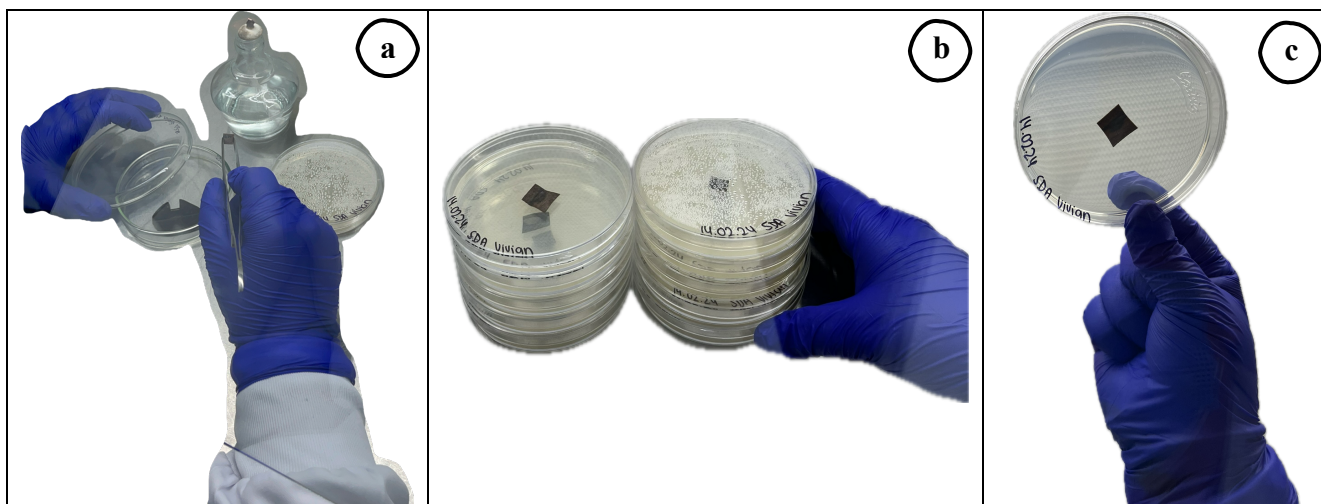
$$(10\%) \times V1 = (1)(100)$$

$$V1 = \frac{1 \times 100}{10} = 10 \text{ ml}$$

Luego se utilizó un matraz aforado de 100 ml en el cual se vertió los 10 ml de hipoclorito de sodio que estaba en la probeta y el resto fue de agua destilada hasta la línea indicada en el matraz aforado. Después, los fragmentos de hojas se colocaron en las cajas petri de vidrio previamente esterilizadas y selladas con parafilm con su respectiva etiqueta e incubadas a una temperatura promedio de 27 °C durante 72 horas (Gepp, 2009).

Transcurrido el tiempo de incubación las cajas petri fueron llevados a una cámara de flujo laminar (BIOBASE, modelo: BBS – H1800) y se tomaron un fragmento de hoja de 1 cm<sup>2</sup> de tamaño, luego se sumergió en agua estéril (Cervantes et al., 2020). Con ayuda de un bisturí, una tijera quirúrgica y pinzas esterilizadas se procedió a sembrar los fragmentos de hojas en un medio de cultivo de Agar Dextrosa Sabouraud (SDA), el cual fue previamente esterilizado durante 30 minutos a una presión de 15 lb pulg<sup>-2</sup> en el autoclave (HYSC, modelo: Serie AC -

60) y se incubó por 7 días a una temperatura de 27 °C, así como se puede observar en la **figura 14**. Las colonias fueron caracterizadas según su morfología macroscópica y microscópica siguiendo los criterios de las claves dicotómicas propuestas por (Gepp, 2009), para lo cual también se puede observar todo el procedimiento en la **figura 15**.

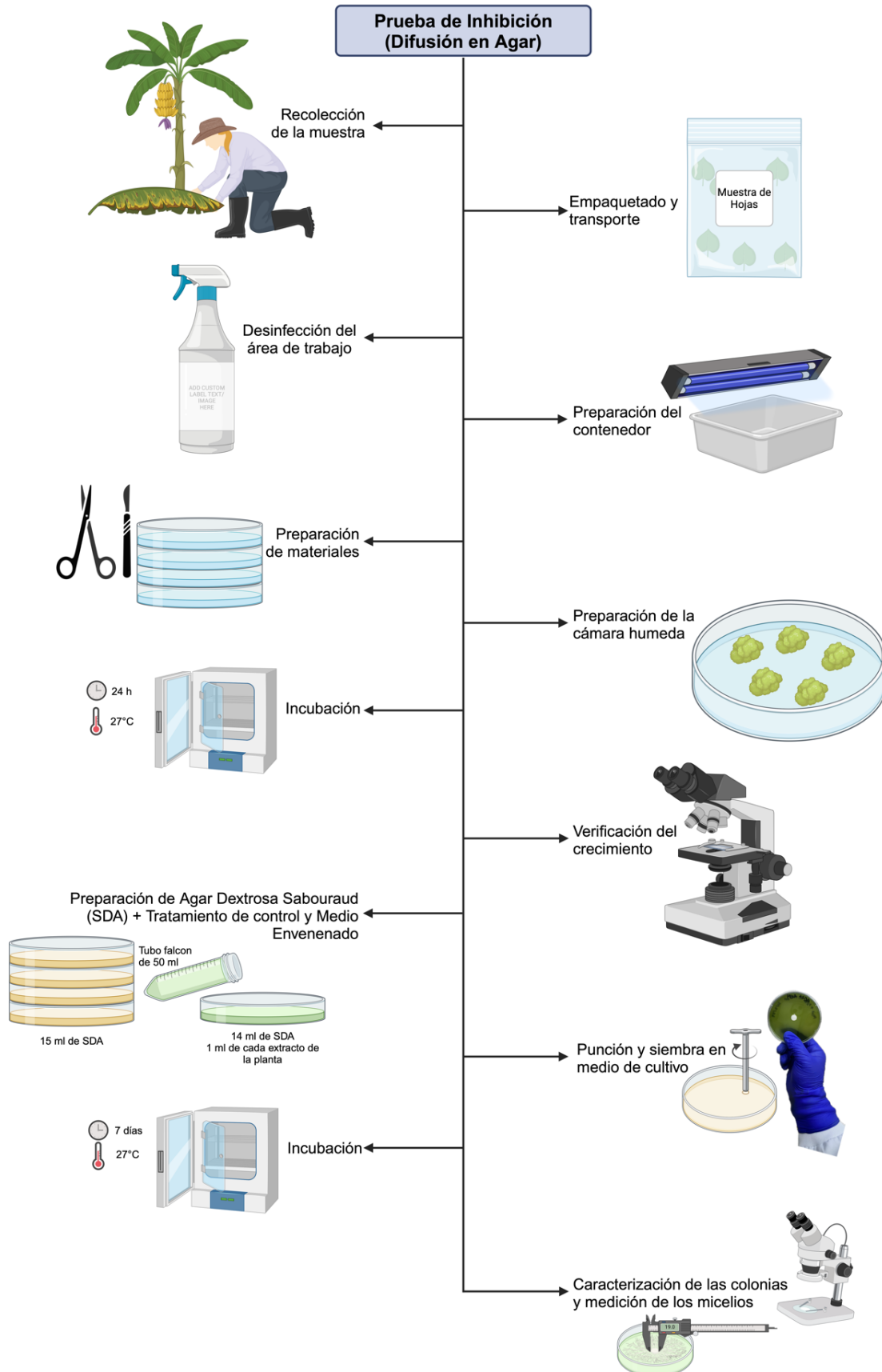


**Figura 14. Incubación del fitopatógeno. (a) Proceso de corte de 1 cm de hoja con el fitopatógeno, (b) Siembra del fitopatógeno, (c) Fitopatógeno sembrado en el medio SDA,** elaborado por, Erazo, Vivian

### 3.4.6 Evaluación *in vitro* de los extractos vegetales contra la *Sigatoka Negra*

La valoración de la capacidad inhibitoria del fitopatógeno por parte de los extractos vegetales se llevó a cabo utilizando la técnica del medio envenenado (Peñuelas-Rubio et al., 2015). Se procedió con la preparación del medio SDA, tal como se lo realizó anteriormente, como segundo paso, se combinó 1 ml de cada extracto vegetal (hoja, rama o tallo) en doce tubos falcón de 50 ml con 14 ml de medio SDA, se realizó tres réplicas de cada extracto, como tercer paso, se distribuyeron como medio de control, 15 ml de SDA sin extracto vegetal en tres placas petri con un diámetro de 9 cm (Gepp, 2009).

Posteriormente, se inoculó la cepa de *M. fijiensis* previamente aislada mediante una punción en el centro de las cajas de petri. Estas se incubaron a una temperatura promedio de 27 °C, y se registró el crecimiento micelial cada 24 horas hasta que las placas petri de control estuvieran completamente cubiertas por el fitopatógeno *M. fijiensis* (Peñuelas-Rubio et al., 2015).



**Figura 15. Esquema metodológico sobre la difusión en Agar y la evaluación *in vitro*.** Creado en Biorender, por Erazo, Vivian.

## CAPÍTULO IV.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### *4.1 Identificación de la especie vegetal*

Como primer resultado analizado se obtuvo la confirmación y verificación de que la especie vegetal recolectada sea sin lugar a dudas la planta *Heliotropium indicum* (cola de alacrán), para lo cual se realizó la herborización de la especie vegetal y también se tomó fotografías del espécimen, las cuáles fueron subidas a una programa de identificación de especies vegetales, en este caso se utilizó el programa Plantnet; se realizó su herborizaron con la finalidad de realizar una descripción morfológica de sus hojas y la identificación de la especie a partir de una revisión bibliográfica de los repositorios de Herbarios internacionales.

##### *4.1.1 Descripción morfológica de la planta Heliotropium indicum*

Debido a su naturaleza de planta arvense, tiende a prosperar en áreas con suelos perturbados, como terrenos baldíos, bordes de carreteras, campos agrícolas abandonados y áreas urbanas degradadas. Se clasifica taxonómicamente en la división *Magnoliophyta*, la clase *Magnoliopsida* y la familia *Boraginaceae*. Esta especie es originaria de Asia, pero tiene una distribución pantropical, lo que significa que se encuentra en diversas regiones tropicales alrededor del mundo (lupafilotaxia, 2019).





**Figura 16.** *Recolección de Heliotropium indicum en una zona pantropical.* Tomada, por Erazo, Vivian.

Esta planta se caracteriza por tener un hábito de crecimiento herbáceo, con tallos y hojas verdes, y ocasionalmente puede tener pequeñas flores blancas o moradas. Las hojas son lanceoladas o elípticas, alternas y cubiertas de pelos cortos. Las flores son pequeñas y están dispuestas en racimos terminales. Una característica distintiva del *Heliotropium indicum* es su inflorescencia en forma de espiral, lo que le otorga una apariencia única (Troiani et al., 2017).

Además, el *Heliotropium indicum* tiene propiedades medicinales y ha sido utilizado en la medicina tradicional para tratar una variedad de dolencias, desde enfermedades de la piel hasta problemas respiratorios. Su nombre común, "cola de alacrán", puede deberse a la forma curvada de sus inflorescencias, que recuerdan la cola de un escorpión. Esta planta es fácilmente reconocible por su hábito de crecimiento, la disposición de sus hojas y flores (iNaturalist Ecuador, 2024).

## 4.2 Tamizaje fitoquímico

Se desarrollaron pruebas de tamizaje fitoquímico en el extracto etanólico al 80% y se procedió a analizar si estaban presentes alcaloides, saponinas, flavonoides cumarinas, carbohidratos y proteínas, tal como se indica en las **tablas (5 - 10)**, para lo cual se evaluó la presencia del metabolito, utilizando la siguiente simbología: ausencia (-), presencia leve (+), presencia moderada (++) y presencia abundante (+++).

**Tabla 5.**

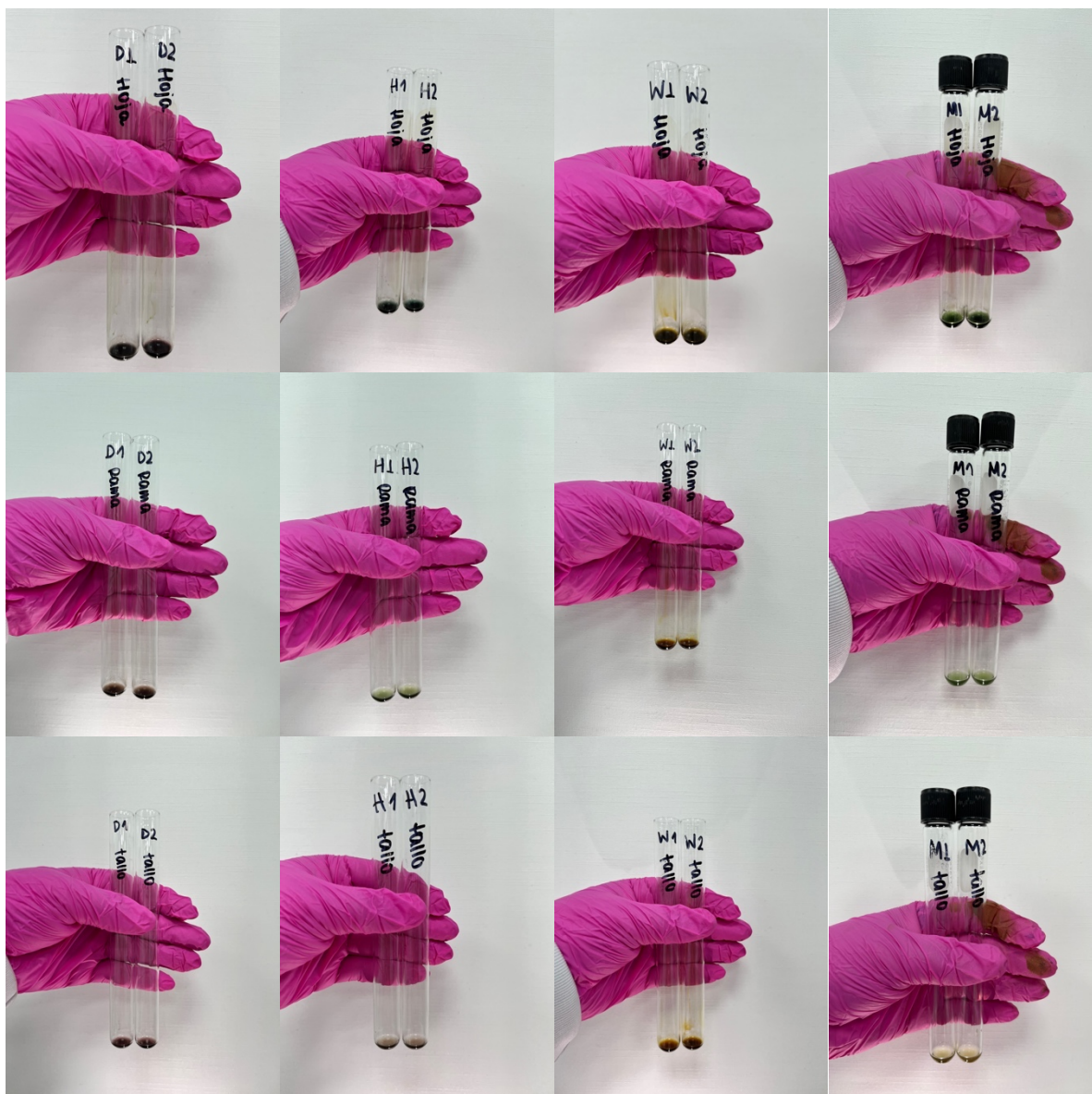
*Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito alcaloide realizado al EE de la hoja, rama y tallo de Heliotropium indicum*

Tamizaje fitoquímico	Metabolito a analizar	(EE) Extracto etanólico al 80%		
		Hoja	Rama	Tallo
Dragendorff	Alcaloides	-	-	-
Hager	Alcaloides	+++	+	+
Wagner	Alcaloides	+++	++	+
Mayer	Alcaloides	++	+	-

*Nota:* Elaborado por Erazo, Vivian.

Según el metabolito utilizado, se observó una ausencia (-) total de alcaloides según el método de Dragendorff en todas las partes de la planta, incluyendo hojas, ramas y tallos, como se observa en la **tabla 5**; esto debido a que en un estudio realizado por (Guerrero, 2014) se concluyó que la baja presencia de alcaloides podría tener implicaciones tanto en términos de defensa contra herbívoros como en su interacción con otros organismos. Sin embargo, los métodos de detección de Hager, Wagner y Mayer mostraron resultados diferentes. El método de Hager reveló la presencia de alcaloides en todas las partes de la planta, con una mayor abundancia (+++) en las hojas seguidas de las ramas y los tallos que mostraron una presencia

leve (+). De manera similar, el método de Wagner detectó alcaloides en las tres partes de la planta, con una concentración abundante (+++) en hojas, mientras que en las ramas se dio una presencia moderada (++), en comparación con los tallos que fue leve (+). Por otro lado, el método de Mayer se encontró alcaloides en las hojas con una presencia moderada (++) y en las ramas con una presencia leve (+), pero no en los tallos ya que mostraron ausencia (-), tal como se puede observar en la **figura 17**.



**Figura 17. Resultados del alcaloide**, tomada por Erazo, Vivian.

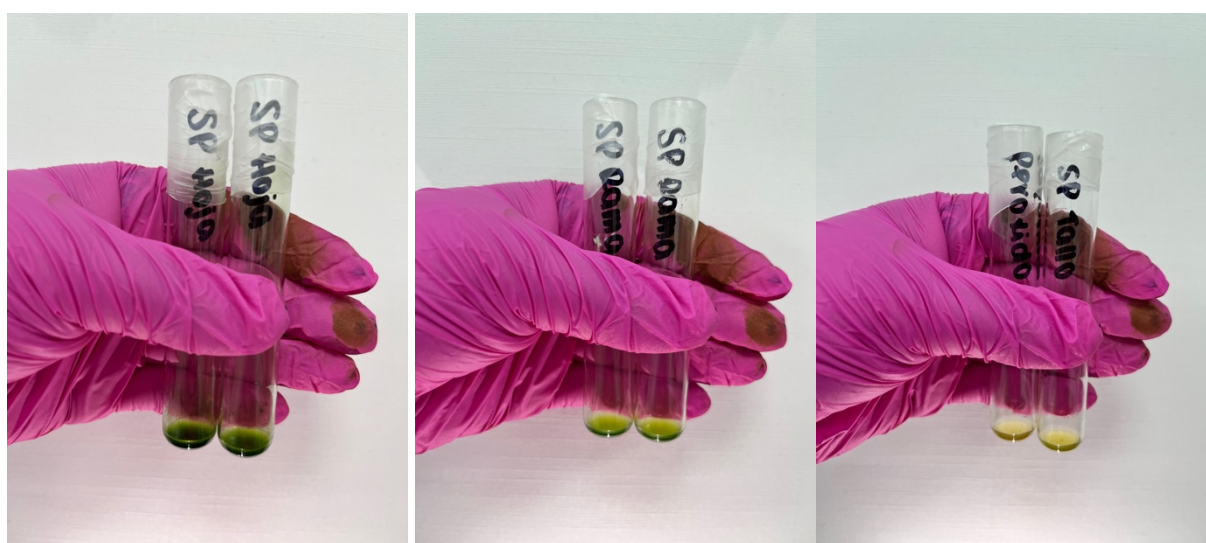
**Tabla 6.**

*Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito saponina realizado al EE de la hoja, rama y tallo de Heliotropium indicum*

Tamizaje fitoquímico	Metabolito a analizar	(EE) Extracto etanólico al 80%		
		Hoja	Rama	Tallo
Peróxido de Hidrogeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	Saponinas	–	–	–

*Nota:* Elaborado por Erazo, Vivian.

En el ensayo de saponinas (**tabla 6**) se observó una ausencia (–) total de saponinas según el método de Peróxido de Hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en todas las partes de la planta, tal como se puede observar en la **figura 18**. Lo cual sugiere que, esta prueba analizada en este metabolito no está presente en concentraciones significativas en la planta, tal como se menciona en el estudio de tamizaje fitoquímico preliminar de especies de plantas promisorias de la costa atlántica colombiana, en ese estudio se destaca que se realizaron pruebas para la determinación de saponinas en los extractos etanólicos de las plantas estudiadas, pero el análisis fitoquímico del extracto etanólico de *Heliotropium indicum* en relación con las saponinas revela ausencia total en todas las partes de la planta (Gómez-Estrada et al., 2011).



**Figura 18.** Resultados de saponinas, tomada por Erazo, Vivian.



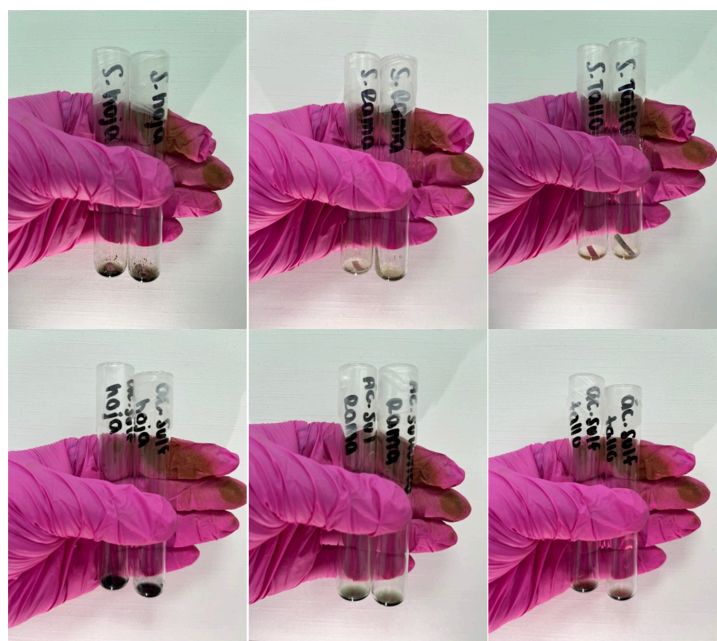
**Tabla 7.**

*Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito flavonoide realizado al EE de la hoja, rama y tallo de Heliotropium indicum*

Tamizaje fitoquímico	Metabolito a analizar	(EE) Extracto etanólico al 80%		
		Hoja	Rama	Tallo
Shinoda	Flavonoides	Flavonas	Flavonas	Flavonas
Ác. Sulfúrico	Flavonoides	Chalconas	–	Aurona

*Nota:* Elaborado por Erazo, Vivian.

La **tabla 7** muestra una variabilidad en la presencia de flavonoides entre las diferentes partes de la planta y los métodos de detección utilizados. Las flavonas fueron detectadas consistentemente en hojas, ramas y tallos según el método de Shinoda, lo que sugiere una presencia abundante de este tipo particular de flavonoides en toda la planta, dándole una tonalidad de color naranja. Sin embargo, la presencia de chalconas y auronas, detectadas mediante el método de Ácido Sulfúrico, varía entre las partes de la planta teniendo una ausencia (–) en rama, siendo más predominante en las hojas y los tallos, con una tonalidad rojo-azulado y rojo-guinda respectivamente, tal como se puede observar en la **figura 19**.



**Figura 19.** Resultados de flavonoides, tomada por Erazo, Vivian.

Así mismo en un estudio realizado por (Gómez-Estrada et al., 2011), se destaca que, se identificaron compuestos cardiotónicos, flavonoides y derivados antracénicos en las distintas partes de la planta, con una distribución diferencial entre hojas, ramas y tallos, por otra parte, la presencia de flavonoides fue abundante debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y posiblemente antimicrobianas.

Por lo tanto, la distribución diferencial de estos metabolitos secundarios entre las partes de la planta sugiere una posible adaptación funcional a las necesidades específicas de cada tejido. Por ejemplo, la presencia de compuestos cardiotónicos en todas las partes de la planta podría indicar una función sistémica, mientras que la concentración de flavonoides y derivados antracénicos podría estar relacionada con la protección contra el estrés oxidativo y la actividad antimicrobiana en las hojas, donde es más probable que ocurran interacciones con patógenos (Gómez-Estrada et al., 2011).

### Tabla 8.

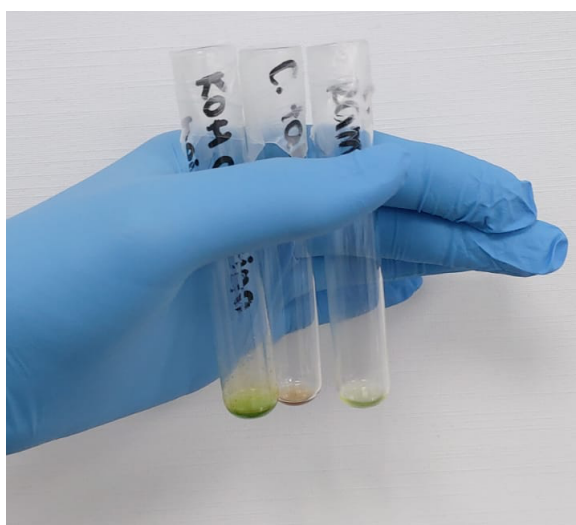
*Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito cumarina realizado al EE de la hoja, rama y tallo de Heliotropium indicum*

Tamizaje fitoquímico	Metabolito a analizar	(EE) Extracto etanólico al 80%		
		Hoja	Rama	Tallo
Hidróxido de Potasio (KOH)	Cumarinas	–	–	+

*Nota:* Elaborado por Erazo, Vivian.

Los resultados de la **tabla 8** indican que no se detectaron cumarinas en las hojas ni en las ramas de *Heliotropium indicum*, ya que presentaron una ausencia total (–). Sin embargo, se observa la presencia leve (+) de cumarinas en los tallos.

Este resultado sugiere una distribución diferencial de cumarinas dentro de la planta, mientras que las hojas y las ramas no muestran la presencia de cumarinas, los tallos sí contienen este tipo de compuestos. Esta distribución selectiva puede tener implicaciones en la actividad biológica y la función fisiológica de la planta, como se observa en la **figura 20**. Las cumarinas son metabolitos secundarios que pueden tener diversas funciones en las plantas, como defensa contra herbívoros, protección contra patógenos o interacciones con otros organismos del ecosistema.



**Figura 20. Resultados de Cumarinas**, tomada por Erazo, Vivian.

**Tabla 9.**

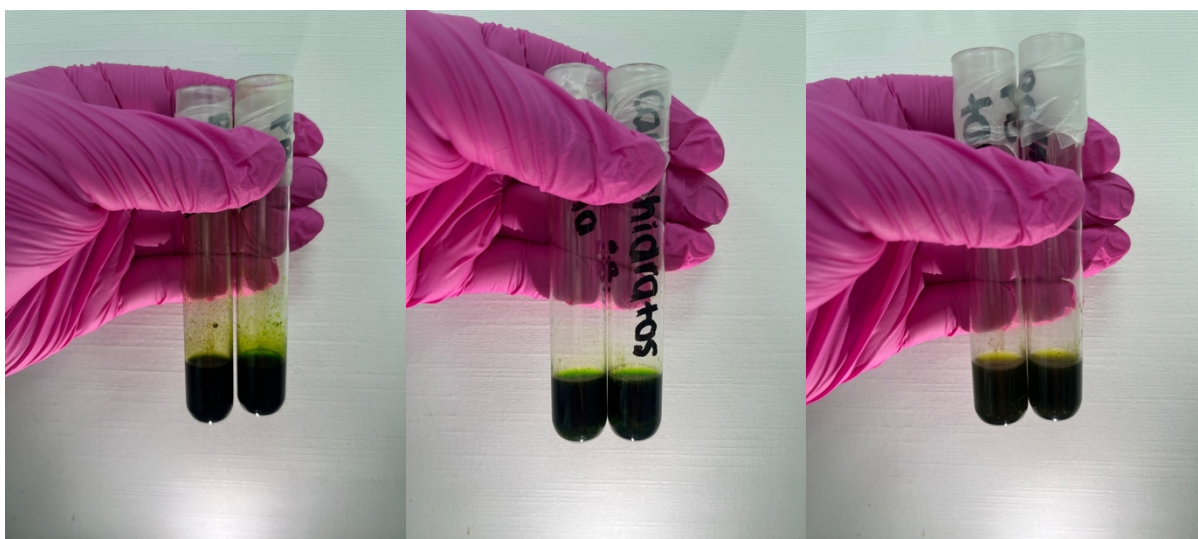
*Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito carbohidrato realizado al EE de la hoja, rama y tallo de Heliotropium indicum*

Tamizaje fitoquímico	Metabolito a analizar	(EE) Extracto etanólico al 80%		
		Hoja	Rama	Tallo
Benedict	Carbohidratos	–	+++	++

*Nota:* Elaborado por Erazo, Vivian.

Los resultados de la prueba de carbohidratos (**tabla 9**) indican una distribución diferencial de carbohidratos dentro de la planta, con una concentración moderada (++) de estos compuestos

en los tallos en comparación con las ramas que se dio una presencia abundante (+++), y una ausencia (-) notable en las hojas. La variación en la concentración de carbohidratos entre las partes de la planta puede reflejar diferencias en la función fisiológica y metabólica de cada tejido, como se observa en la **figura 21**.



**Figura 21.** Resultados de carbohidratos, tomada por Erazo, Vivian.

**Tabla 10.**

*Resultados del tamizaje fitoquímico del metabolito proteína realizado al EE de la hoja, rama y tallo de Heliotropium indicum*

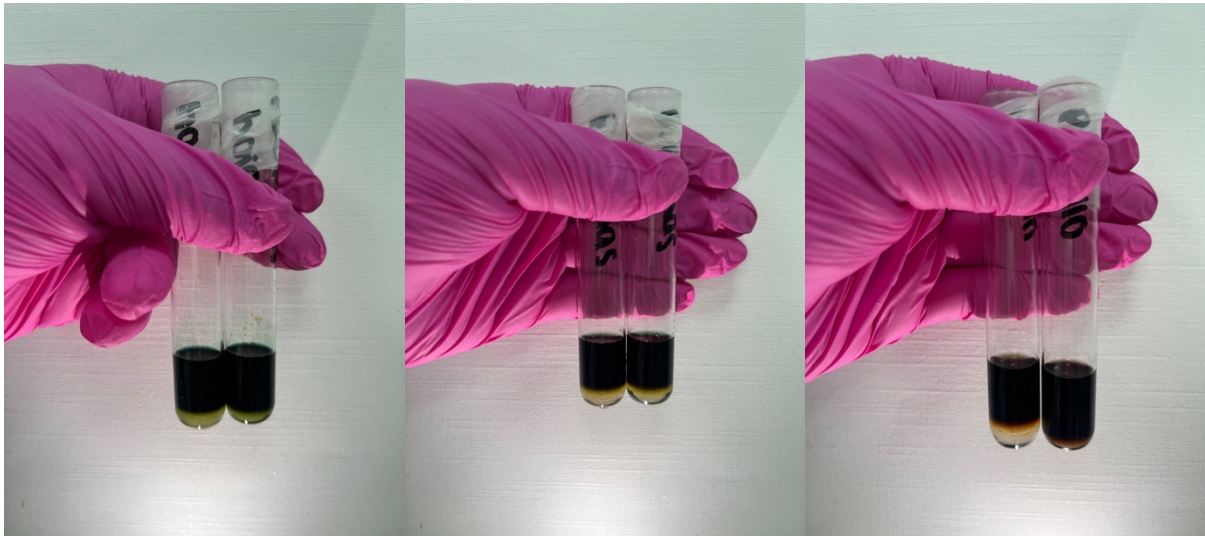
Tamizaje fitoquímico	Metabolito a analizar	(EE) Extracto etanólico al 80%		
		Hoja	Rama	Tallo
Terpenoides	Proteínas	+	++	++

*Nota:* Elaborado por Erazo, Vivian.

La concentración más alta de estos metabolitos se dio en los tallos y ramas con una presencia moderada (++) en comparación con las hojas que reflejó una presencia leve (+), lo cual puede indicar una mayor actividad metabólica y biosintética en estas estructuras de la planta, detallados en la **tabla 10** Los terpenoides son compuestos orgánicos que desempeñan diversas



funciones en las plantas, incluyendo la defensa contra herbívoros y patógenos, así como la atracción de polinizadores, tal como se observa en la **figura 22**.



**Figura 22. Resultados de proteínas**, tomada por Erazo, Vivian.

#### **4.3 Identificación del fitopatógeno (*Mycosphaerella fijiensis*)**

Para su identificación morfológica y microscópica se consultó a (Alarcón, 2018), el cual describe que, morfológicamente, su micelio se compone de hifas filamentosas con septos, por otra parte, los conidióforos, estructuras de reproducción, son cilíndricos o ligeramente curvados, emergiendo del tejido infectado y portando conidias esféricas a ovaladas en cadenas. Estas conidias son transparentes y constituyen el principal medio de dispersión del fitopatógeno. A medida que progresa la infección, pueden formarse picnidios, estructuras reproductivas que albergan conidias en su interior (Alarcón, 2018).

La observación microscópica permite examinar con detalle las características de las conidias, como su forma, tamaño y color, así como los septos en las hifas. Además, los picnidios pueden ser identificados en etapas avanzadas de la infección, proporcionando información adicional sobre la morfología del fitopatógeno (Alarcón, 2018).

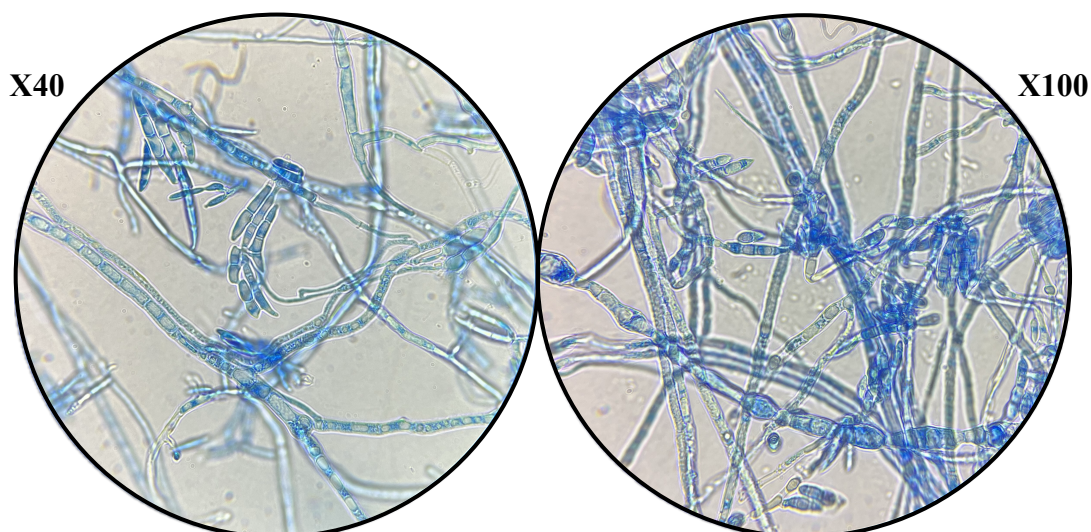
En la identificación del fitopatógeno en este estudio, se confirmó la presencia de *Mycosphaerella fijiensis*. Para este propósito, se utilizó una placa de agar SDA previamente preparada con 15 ml de agar solidificado. Se tomaron tres círculos de agar de 1 cm de diámetro utilizando un sacabocados. Luego, se recolectaron micelios del fitopatógeno cultivado mediante un aza, y estos micelios fueron inoculados en los círculos de agar.

Posteriormente, se colocaron tres cubreobjetos esterilizados con alcohol al 46% y un mechero sobre los círculos inoculados. Después de permitir que los cubreobjetos se enfriaran para evitar dañar al fitopatógeno, se colocaron sobre los círculos inoculados. Todo el conjunto se introdujo en una caja de petri de plástico, la cual fue sellada herméticamente con Parafilm. Finalmente, la caja de petri se incubó a una temperatura constante de 27°C durante un periodo de 3 a 4 días.

Este método permitió la observación y el crecimiento controlado de *Mycosphaerella fijiensis*, asegurando un ambiente propicio para su desarrollo en las condiciones específicas de incubación.

Pasado los 4 días de incubación, se realizó la identificación microscópica del fitopatógeno por medio de la tinción con azul de lactofenol, para lo cual se utilizó tres portaobjetos en donde se colocó cada cubreobjeto que contenía los micelios del fitopatógeno sin el círculo de agar, previamente se agregó una gota de azul de lactofenol en el cubreobjetos, y se procedió a su respectiva observación utilizando un microscopio óptico a x40 en el cual se pudo observar que la estructura del fitopatógeno eran similares a las reportadas por Alarcón, adicionalmente luego se agregó una gota de aceite de inmersión para poder observar a x100 que las conidias sean

similares a las antes mencionadas; de este modo se pudo corroborar la identificación del fitopatógeno, tal como se puede observar en la **figura 23**.



**Figura 23.** *Identificación microscópica del fitopatógeno Sigatoka negra*, tomada por Erazo, Vivian.

#### **4.4 Actividad antifúngica del extracto etanólico**

La evaluación *in vitro* comenzó a mostrar resultados a partir del séptimo día. Este período de tiempo es crítico porque permitió observar el impacto de los extractos sobre el crecimiento del fitopatógeno después de un período razonable de incubación. El control negativo consistió en placas que no contienen extracto, lo que permitió evaluar el crecimiento natural del fitopatógeno en ausencia de cualquier tratamiento. En este caso, se observó crecimiento en los halos alrededor de las placas del control negativo después del séptimo día.

El crecimiento en halos se refiere al área alrededor de las placas donde se observa el efecto de los extractos sobre el fitopatógeno. Un halo más grande indica una mayor inhibición del crecimiento del patógeno. La placa de control para el extracto de hoja creció 42.16 mm, el control de rama creció 29.22 mm y el control de tallo 22.83 mm.

Así mismo el análisis de las 3 placas de cada extracto (hoja, tallo y rama), mostraron una inhibición completa contra el fitopatógeno, para lo cual en las tres placas del extracto de la hoja: la primera placa mostró un crecimiento de 11.04 mm, la segunda de 12.64 mm y la tercera de 8.20 mm; dando como resultado un porcentaje de inhibición contra *Mycosphaerella fijiensis* de 25.18% de actividad antifúngica.

Para las placas del medio envenenado del extracto de rama, se obtuvo que la primera placa el fitopatógeno creció 16.80 mm, la segunda 14.35 mm y la tercera 14.90 mm; dando como porcentaje de inhibición de 46.82%. por ultimo las placas del extracto de tallo mostraron crecimientos de 9.52 mm; 9.53 mm y 9.74 mm mostrando una actividad inhibitoria del 40.72%; tal como se observa en la **tabla 11**.

**Tabla 11.**

*Porcentaje de inhibición de cada extracto*

Hoja	Rama	Tallo
11.04 mm	11.80 mm	9.52 mm
12.64 mm	14.35 mm	9.53 mm
8.20 mm	14.90 mm	9.74 mm
42.16 mm <i>(control negativo)</i>	29.22 mm <i>(control negativo)</i>	22.83 mm <i>(control negativo)</i>
25.18% inhibición	46.82% inhibición	40.27% inhibición

**Nota:** Elaborado por Erazo, Vivian.

Los resultados sugieren que el extracto de rama fue el más efectivo en inhibir el crecimiento del fitopatógeno, con un porcentaje de inhibición significativamente mayor que los otros dos extractos. El extracto de tallo también mostró actividad inhibitoria, pero en menor medida en

comparación con el de rama. Aunque el extracto de hoja logró una inhibición completa, el porcentaje de inhibición fue inferior al de los otros dos extractos.

Estos hallazgos indican que diferentes partes de la planta pueden tener composiciones químicas distintas, lo que resulta en variaciones en su capacidad para inhibir el crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis*. En este caso, el extracto de rama demostró ser el más prometedor en términos de actividad antifúngica contra el fitopatógeno evaluado.

El análisis de la media de las tres placas de cada extracto (hoja, tallo y rama) con un valor de 11.34 mm, que refleja un promedio de las medidas de crecimiento del fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis* en presencia de los diferentes extractos. En este contexto, indica el crecimiento promedio del fitopatógeno en presencia de los extractos.

En comparación con el estudio "Efecto de tres extractos vegetales sobre la sigatoka negra del plátano (*Musa AAB* cv. Hartón)" evaluó el efecto de extractos vegetales en el control de la Sigatoka negra en plantas de plátano (Luís et al., 2009). Los extractos etanólicos evaluados fueron de *Heliotropium indicum*, *Lippia organoides* y *Ricinus communis*, así como combinaciones de estos extractos (Luís et al., 2009).

Los resultados mostraron que los extractos de *Heliotropium indicum*, *Lippia organoides* y *Ricinus communis*, tanto individualmente como en combinación, mostraron tendencias hacia una mayor posición de la hoja más joven enferma (HMJE) en comparación con el testigo de agua y el testigo comercial de benomilo. Estos resultados sugieren un potencial efecto de los extractos vegetales en el control de la Sigatoka negra en plantas de plátano (Luís et al., 2009).

Este enfoque de utilizar extractos vegetales como alternativa al uso de agroquímicos es relevante en el contexto del Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas, que exhorta a promover alternativas de control de plagas con un riesgo reducido para los seres humanos y el ambiente (Arias & Braulio, 2018).

En síntesis, el estudio proporciona evidencia del potencial de los extractos vegetales, como los de *Heliotropium indicum*, *Lippia origanoides* y *Ricinus communis*, para el control de la Sigatoka negra en plantas de plátano, lo que podría representar una alternativa más sostenible y respetuosa con el medio ambiente en comparación con el uso de agroquímicos (Adriano-Anaya et al., 2023).

## CAPÍTULO V.

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

La revisión bibliográfica proporcionó información relevante sobre la actividad antifúngica de *Heliotropium indicum*, respaldando la elección de esta especie vegetal para el estudio, permitiendo de este modo obtener los extractos etanólicos de diferentes partes de la especie vegetal (hoja, tallo y rama), lo que permitió llevar a cabo la evaluación de la actividad antifúngica contra *Mycosphaerella fijiensis*.

La evaluación *in vitro* reveló que los extractos de hoja, tallo y rama lograron una inhibición completa del crecimiento del fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis*. El análisis de los resultados indicó que el extracto de rama mostró la mayor actividad inhibitoria, seguido por el extracto de tallo, mientras que el extracto de hoja exhibió una inhibición menor en comparación con los otros dos.

El presente estudio refuerza la idea de que los extractos vegetales, como los de *Heliotropium indicum*, pueden ser efectivos en el control de fitopatógenos, destacando su potencial como alternativas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente en comparación con el uso de agroquímicos.

## 5.2 Recomendaciones

Dada la demostrada actividad inhibitoria de los extractos etanólicos de *Heliotropium indicum* contra *Mycosphaerella fijiensis*, es crucial continuar con el proyecto para profundizar en los mecanismos de acción, identificar compuestos activos y explorar posibles aplicaciones agrícolas. Así como ampliar la investigación para incluir más variables y condiciones que permitan una comprensión más completa de la eficacia de los extractos.

Se recomienda considerar la optimización de los procedimientos de extracción para mejorar la concentración de compuestos activos en los extractos; y explorar diferentes métodos y solventes de extracción para maximizar la eficacia de los extractos y garantizar una producción consistente.

En virtud de que el extracto de rama mostró la mayor actividad inhibitoria, se recomienda centrar la atención en este extracto específico para un análisis más detallado, así como continuar la investigación de la composición química específica de la rama que contribuye a la actividad antifúngica.

Es esencial comparar directamente los extractos de *Heliotropium indicum* con agroquímicos convencionales para evaluar su eficacia en el control de *Mycosphaerella fijiensis*. Este análisis no solo determinará la capacidad de los extractos para competir con productos químicos tradicionales, sino que también facilitará la evaluación de su viabilidad económica y su potencial para reducir la dependencia de agroquímicos sintéticos.



## CAPÍTULO VI.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ácaro, L. (2019). Tierra, trabajo y tóxicos: sobre la producción de un territorio bananero en la costa sur del Ecuador. *Estudios Atacameños*, 63(63), 341–364. <https://doi.org/10.22199/ISSN.0718-1043-2019-0034>
- Adama. (2023, May 31). *Protección contra Sigatoka Negra | ADAMA América Central y Caribe*. <https://www.adama.com/central-america/es/articulo/proteccion-contrasigatoka-negra>
- Adriano-Anaya, M. de L., Matías-Castillo, S., Moreno-Castillo, B., Vázquez-Ovando, A., Salvador-Figueroa, M., Adriano-Anaya, M. de L., Matías-Castillo, S., Moreno-Castillo, B., Vázquez-Ovando, A., & Salvador-Figueroa, M. (2023). Mixture of clove (*Syzygium aromaticum*) and garlic (*Allium sativum*) alcoholic extracts in the control of black Sigatoka in 'Macho' plantain. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 41(1), 82–92. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2207-3>
- Alarcón, A. (2018). REVISTA MEXICANA DE FITOPATOLOGÍA. *Órgano Internacional de Difusión de La Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.*, 36.
- Anibar, L., Jaramillo, T., Armando, R., Cachiguango, B., Trinidad, J., Rosado, P., Alfonso, D., & Akopyan, S. (2021). *Guía para la producción y manejo integrado del cultivo de plátano*. [www.agricultura.gob.ec](http://www.agricultura.gob.ec)
- Apolo, D., Vite, H., & Carvajal, H. (2021). 6 ANÁLISIS. <https://orcid.org/0000-0001-8818-1042>
- Arias, V., & Braulio, H. (2018). *UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA MACHALA 2018*.

- Aronés-Jara, M. R., Cárdenas-Landeo, E., Luna-Molero, H. R., Barbarán-Vilcatoma, S. M., Gómez-Quispe, M., Aronés-Jara, M. R., Cárdenas-Landeo, E., Luna-Molero, H. R., Barbarán-Vilcatoma, S. M., & Gómez-Quispe, M. (2022a). Tamizaje fitoquímico, contenido de compuestos fenólicos y potencial antioxidante de trece plantas medicinales de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en Perú. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 88(2), 165–179. <https://doi.org/10.37761/RSQP.V88I2.388>
- Aronés-Jara, M. R., Cárdenas-Landeo, E., Luna-Molero, H. R., Barbarán-Vilcatoma, S. M., Gómez-Quispe, M., Aronés-Jara, M. R., Cárdenas-Landeo, E., Luna-Molero, H. R., Barbarán-Vilcatoma, S. M., & Gómez-Quispe, M. (2022b). Tamizaje fitoquímico, contenido de compuestos fenólicos y potencial antioxidante de trece plantas medicinales de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en Perú. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 88(2), 165–179. <https://doi.org/10.37761/RSQP.V88I2.388>
- Baena, M. (2020). *Morfología de la planta del banano | Improving the understanding of banana*. <https://www.promusa.org/Morfolog%C3%ADa+de+la+planta+del+banano>
- Bennett, R. S., & Arneson, P. A. (2005). Sigatoka Negra. *The Plant Health Instructor*. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2005-0217-01>
- Campoverde, A., & Jairo, J. (2016a). *UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA MACHALA 2016*.
- Campoverde, A., & Jairo, J. (2016b). *UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA MACHALA 2016. EFECTO ANTIFÚNGICO DE SEIS EXTRACTOS VEGETALES SOBRE EL HONGO MYCOSPHAERELLA SP EN EL CULTIVO DE BANANO*.
- Carrier, J., Mourichon, X., González de León, D., Zapater, M., & Lebrun, M. (1994). Phyto84n07\_751. *Phytopathology*.

- Carrión, J. (2020). *MONITOREO Y CONTROL ESPACIAL DE LA SIGATOKA NEGRA (MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS M), EN EL CULTIVO DEL BANANO.*
- Cervantes, R., Paucar, Y. L., Urdaneta, A. B. S., Ortega, C. B. C. de, & Aguilar, E. E. J. (2020). Evaluación del desarrollo de micelios de *Mycosphaerella Fijiensis* Morelet, recolectados en el centro y lindero en plantación de *Musa* sp. AAA. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 3(3), 246–252. <https://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/338>
- Cruz-Sosa, F., Alarcón-Aguilar, F., Nieto-Trujillo, A., & Gallegos-Martínez, M. (2019). *ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE Thalassia testudinum BANKS EX KÖNING ET SIMS DE LA LOCALIDAD DE CHAMPOTÓN, CAMPECHE, MÉXICO, DURANTE EL CICLO ANUAL 2016-2017 QUALITATIVE PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF THE AQUEOUS EXTRACTS OF Thalassia testudinum BANKS EX KÖNING ET SIMS FROM THE AREA OF CHAMPOTON, CAMPECHE, MEXICO, DURING THE ANNUAL CYCLE 2016-2017.* <https://doi.org/10.18387/polibotanica.48.12>
- Davicino, R., Mattar, M. A., Casali, Y. A., Correa, S. G., Pettenati, E. M., & Micalizzi, B. (2007). Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. *Revista Peruana de Biología*, 14(2), 247–252. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332007000300011&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332007000300011&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Esperanza, S., Forero, A., Virgilio, N., Gambasica, P., Carlos, J., & Flores, M. (2012). *Relación entre las propiedades edafoclimáticas y la incidencia de sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis Morelet) en la zona bananera del Magdalena-Colombia Relationship between soil and edaphoclimatic properties and the Black Sigatoka incidence (Mycosphaerella fijiensis Morelet) in the Banana Region of Magdalena-Colombia.*

- Foundation, C. D. (2010). *Musa × paradisiaca*. In *Lista de especies de Galápagos*.  
<https://www.darwinfoundation.org/es/datazone/checklist?species=15746>
- Foy Valencia, E., Mac Donald, D., Cuyos, M., & Dueñas, R. (2005). *EXTRACCIÓN, IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE SAPONINAS EN Agaricus bisporus*.
- Gepp, V. (2009). *Curso de Fitopatología*.
- Gilberto García-Hernández, D., Rivas-Morales, C., & Leos-Rivas, C. (2016). *CAPÍTULO ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA*. <https://doi.org/10.3926/oms.314>
- Gómez-Estrada, H., Díaz-Castillo, F., Franco-Ospina, L., Mercado-Camargo, J., Guzmán-Ledezma, J., Medina, J. D., & Gaitán-Ibarra, R. (2011). Folk medicine in the northern coast of Colombia: an overview. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 7.  
<https://doi.org/10.1186/1746-4269-7-27>
- Guerrero, N. (2014). “*CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE ORYCTANTHUS SPICATUS (LORANTHACEAE)*.”
- Guerrero-Rodríguez, E., Solís-Gaona, S., Hernández-Castillo, F., Flores-Olivas, A., Sandoval-López, V., & Jasso-Cantú, D. (2007). *Actividad Biológica in vitro de Extractos de Flourensia cernua D.C. en Patógenos de Postcosecha: Alternaria alternata (Fr.:Fr.) Keissl., Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz. y Sacc. y Penicillium digitatum (Pers.:Fr.) Sacc.* [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092007000100007](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092007000100007)
- Guzmán, M., & Paladines, R. (2019). *Sigatoka Negra - CropLife Latin America*. Sigatoka Negra. <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/sigatoka-negra>
- Hernández, A., Sorí, R., Valentín, Y., López, A., Córdva, O., & Benedico, Ó. (2016). *Sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis Morelet) y seguridad alimentaria. Escenarios*

- bioclimáticos en bananos bajo efecto del cambio climático en Ciego de Ávila, Cuba.*  
[http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2308-38592016000200003](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-38592016000200003)
- iNaturalist Ecuador. (2024). *Cola de alacrán (Heliotropium indicum)* · iNaturalist Ecuador.  
<https://ecuador.inaturalist.org/taxa/83492-Heliotropium-indicum>
- InfoAgro. (2023). *El cultivo del plátano (banano).*  
[https://www.infoagro.com/documentos/el\\_cultivo\\_del\\_platano\\_\\_banano\\_.asp](https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_del_platano__banano_.asp)
- Kuklinski Kopi, C. (2003). *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural.* 103–104.  
[https://dama.umh.es/discovery/fulldisplay/alma991000221519706331/34CVA\\_UMH:VU1](https://dama.umh.es/discovery/fulldisplay/alma991000221519706331/34CVA_UMH:VU1)
- León Ajila, J. P., Espinosa Aguilar, M. A., Carvajal Romero, H. R., & Quezada Campoverde, J. (2023a). Análisis de la producción y comercialización de banano en la provincia de El Oro en el periodo 2018-2022. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(1), 7494–7507. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i1.4981](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.4981)
- León Ajila, J. P., Espinosa Aguilar, M. A., Carvajal Romero, H. R., & Quezada Campoverde, J. (2023b). Análisis de la producción y comercialización de banano en la provincia de El Oro en el periodo 2018-2022. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(1), 7494–7507. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i1.4981](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.4981)
- Luis, J., Hernández, V., Rodríguez, D., Sanabria, M. E., & Hernández, J. (2009). Efecto de tres extractos vegetales sobre la Sigatoka negra del plátano (Musa AAB cv. Hartón) Effect of three plant extracts on plantain black sigatoka (Musa AAB cv Harton). In *Revista UDO Agrícola* (Vol. 9, Issue 1).

- lupafilotaxia. (2019). *Diferenciación morfológica // Heliotropium indicum (BORAGINACEAE) y Sida acuta (MALVACEAE) — Steemit.*  
<https://steemit.com/steemstem/@lupafilotaxia/diferenciacion-morfo-1551626194>
- Manzo Sánchez, A., Santos, O., & González, G. (2001). *Revista Mexicana de Fitopatología. Revista Mexicana de Fitopatología, 19(1), 66–71.*  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219109>
- Martínez-Bolaños, L., Téliz-Ortiz, D., Concepción Rodríguez-Maciel, J., Mora-Aguilera, J. A., Nieto-Ángel, D., Cortés-Flores, J. I., Mejía-Sánchez, D., Nava-Díaz, C., & Silva-Aguayo, G. (2012a). *RESISTENCIA A FUNGICIDAS EN POBLACIONES DE Mycosphaerella fijiensis DEL SURESTE MEXICANO FUNGICIDES RESISTANCE ON Mycosphaerella fijiensis POPULATIONS OF SOUTHEASTERN MÉXICO.*
- Martínez-Bolaños, L., Téliz-Ortiz, D., Concepción Rodríguez-Maciel, J., Mora-Aguilera, J. A., Nieto-Ángel, D., Cortés-Flores, J. I., Mejía-Sánchez, D., Nava-Díaz, C., & Silva-Aguayo, G. (2012b). *RESISTENCIA A FUNGICIDAS EN POBLACIONES DE Mycosphaerella fijiensis DEL SURESTE MEXICANO FUNGICIDES RESISTANCE ON Mycosphaerella fijiensis POPULATIONS OF SOUTHEASTERN MÉXICO.*
- Mata Anchundia, D., Suatunce Cunuhay, J. P., & Poveda Morán, R. (2021). 637869393005.
- Mena, X., & Cough, Y. (2015). (PDF) *Efectos de los plaguicidas utilizados para el control de la Sigatoka negra en plantaciones bananeras en México, así como su efecto en el ambiente y la salud pública.*  
[https://www.researchgate.net/publication/302925840\\_Efectos\\_de\\_los\\_plaguicidas\\_utilizados\\_para\\_el\\_control\\_de\\_la\\_Sigatoka\\_negra\\_en\\_plantaciones\\_bananeras\\_en\\_Mexico\\_as\\_i\\_como\\_su\\_efecto\\_en\\_el\\_ambiente\\_y\\_la\\_salud\\_publica](https://www.researchgate.net/publication/302925840_Efectos_de_los_plaguicidas_utilizados_para_el_control_de_la_Sigatoka_negra_en_plantaciones_bananeras_en_Mexico_as_i_como_su_efecto_en_el_ambiente_y_la_salud_publica)

- Molina, C., Kaemmer, D., Aponte, S., Weising, K., & Kahl, G. (2001). Microsatellite markers for the fungal banana pathogen *Mycosphaerella musicola*. *Molecular Ecology Notes*, 1(3), 137–139. <https://doi.org/10.1046/J.1471-8278.2001.00051.X>
- Morales Romero, L. M., Ullauri Espinoza, M. A., Dávila Martínez, A., & Maza Estrada, N. (2011). Respuesta de cultivares de musa SPP. A “*Mycosphaella fijiensis*” morelet y contribución al manejo de la enfermedad mediante el empleo de extractos vegetales. *Cuadernos de Fitopatología: Revista Técnica de Fitopatología y Entomología*, ISSN 0213-4128, Año N° 28, N° 109, 2011, Págs. 12-22, 28(109), 12–22. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3791657>
- Orozco-Santos, M., Orozco-Romero, J., Pérez-Zamora, O., Manzo-Sánchez, G., Farías-Larios, J., Da, W., & Moraes, S. (1992). Prácticas culturales para el manejo de la Sigatoka negra en bananos y plátanos. *Tropical Plant Pathology*, 189(3), 189–196. [www.sbfito.com.br](http://www.sbfito.com.br)
- Palencia, G. E., Raúl, C., Santos, G., Martín, J. E., & Bucaramanga, S. (2006). *Manejo sostenible del cultivo del plátano*. [www.produmedios.com](http://www.produmedios.com)
- Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Vargas-Arispuro, I. C., Lares-Villa, F., Cantú-Soto, E. U., Hernández-Rodríguez, S. E., Gutiérrez-Coronado, M. A., & Mungarro-Ibarra, C. (2015). Bioactividad *in vitro* de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata*) sobre la inhibición de hongos poscosecha: *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum* y *Rhizopus oryzae*. *Polibotánica*, 40(40), 183–198. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.40.12>
- Portal Frutícola. (2022). *Ecuador: Exportaciones de bananos totalizan 234,42 millones de cajas durante enero a agosto del 2022 - PortalFruticola.com*. <https://www.portalfruticola.com/noticias/2022/09/23/ecuador-exportaciones-de-bananos-totalizan-23442-millones-de-cajas-durante-enero-a-agosto-del-2022/>

- Quiroga, K. (2021). *Efecto funguicida de extractos vegetales contra la Sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis Morelet) en el cultivo de plátano (Musa paradisiaca) Cultivar Hartón*. Universidad De Pamplona.
- Regional de la FAO para América Latina el Caribe, O. (2001). *La Sigatoka negra en plátano y banano. Guía para el reconocimiento y manejo de la enfermedad, aplicado a la agricultura familiar*. [www.fhia.org.hn/](http://www.fhia.org.hn/)
- Robinson, J. C., & Galán Saúco, V. (2012). *Plátanos y bananas*. Mundi-Prensa.
- Rodríguez, K. G., Ortiz, O. J., Quiroz, A. I., & Parrales, M. L. (2020). *El e-commerce y las Mipymes en tiempos de Covid-19*. <https://doi.org/10.48082/espacios-a20v41n42p09>
- Root, T. (2022). *Cultivos orgánicos de Plátano y Banano más productivos Terra Zan*. <https://terrazan.co/blog/cultivos-organicos-de-platano-y-banano-mas-productivos/>
- Rosales, F., Belalcázar, S., & Pocasangre, L. (2004a). 1098. *Manual Práctico Para Productores*, 3–66.
- Rosales, F., Belalcázar, S., & Pocasangre, L. (2004b). 1098. *Manual Práctico Para Productores*, 3–66.
- Sabio, Carlos., Salgado, Carlos., Salgado, Victor., & Saenz, Vilma. (2000). *Manual de cultivo de banano*.
- Salcedo-Pérez, E., De, M., Arvizu, L., De, J., Vargas-Radillo, J., Vargas-Ponce, O., Bernabe-Antonio, A., & Barrientos-Ramírez, L. (2014). *Mineral content and phytochemical compounds in Physalis chenopodifolia Lam. on two conditions of vegetal growth*.
- Sánchez Peña, M., Muñoz Almaguer, M. L., & Díaz Vega, G. (2014). *Farmacia galénica | Farmacología general. Una guía de estudio | AccessMedicina | McGraw Hill Medical*. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1489&sectionid=96949506>
- Santana, R. (2014). *UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO*.



- Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., McVeigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020a). NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 2020. <https://doi.org/10.1093/DATABASE/BAAA062>
- Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., McVeigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020b). NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 2020. <https://doi.org/10.1093/DATABASE/BAAA062>
- Segura, A. (2018). *Fisiología de la Producción del Cultivo de Banano en el Trópico* | Intagri S.C. <https://www.intagri.com/articulos/frutales/fisiologia-de-la-produccion-del-cultivo-de-banano-en-el-tropico>
- Sharapin, N. (2000). Sapogeninas esteroidales: materia prima para la fabricación de hormonas esteroidales. *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos*, 91–98.
- Simmonds, N. (1966). *Bananas*. [https://books.google.com.ec/books/about/Bananas.html?id=90xJAAAAMAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.ec/books/about/Bananas.html?id=90xJAAAAMAAJ&redir_esc=y)
- Stover, R. H. (Robert H., Simmonds, N. W. (Norman W., & Simmonds, N. W. (Norman W. (1987). *Bananas 3rd edition, Longman Scientific and Technical, Harlow, UK*. 468. <https://search.worldcat.org/title/13008247>
- Troiani, H. O., Prina, A. O., Muiño, W. A., Tamame, M. A., & Beinticinco, L. (2017). *Botánica, morfología, taxonomía y fitogeografía*.
- Valverde, M. (2019). *UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO*. 5–40.

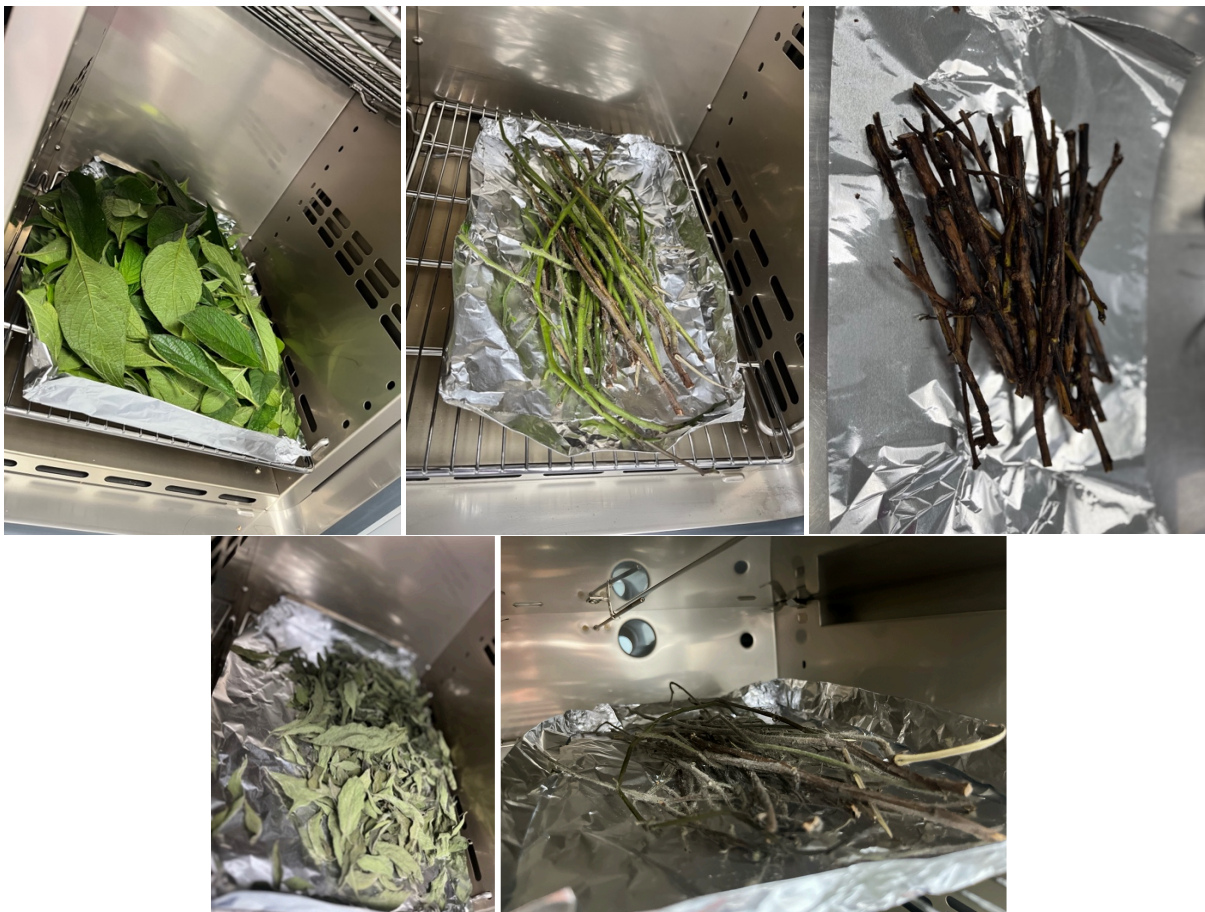
- Vargas Céspedes, A., Watler, W., Morales, M., & Vignola, R. (2017a). FICHA TÉCNICA CULTIVO DE BANANO Realizado con el aporte del Fondo de Adaptación. *Corporación Bananera Nacional CORBANA*, 1–56.
- Vargas Céspedes, A., Watler, W., Morales, M., & Vignola, R. (2017b). FICHA TÉCNICA CULTIVO DE BANANO Realizado con el aporte del Fondo de Adaptación. *Corporación Bananera Nacional CORBANA*, 1–56.
- Verdesoto, J. (2016a). PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR FACULTAD DE COMUNICACIÓN, LINGÜÍSTICA Y LITERATURA ESCUELA MULTILINGÜE DE NEGOCIOS Y RELACIONES INTERNACIONALES DISERTACIÓN DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADO MULTILINGÜE EN NEGOCIOS. *Revista de La PUCE*, 1–121.
- Verdesoto, J. (2016b). PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR FACULTAD DE COMUNICACIÓN, LINGÜÍSTICA Y LITERATURA ESCUELA MULTILINGÜE DE NEGOCIOS Y RELACIONES INTERNACIONALES DISERTACIÓN DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADO MULTILINGÜE EN NEGOCIOS. *Revista de La PUCE*, 1–121.

## Anexos

### Anexo 1. *Recolección de la especie vegetal*



### Anexo 2. *Colocación del secado de las partes de la espécimen vegetal y resultado final luego de las 72 horas*





Anexo 3. Etiquetado, triturado y pulverizado



**Anexo 4.** *Maceración en frío durante 3 horas y filtrado de cada extracto*





*Anexo 5. Secado por completo los extractos usando el rotavapor*



• Hoja

• Rama

• Tallo

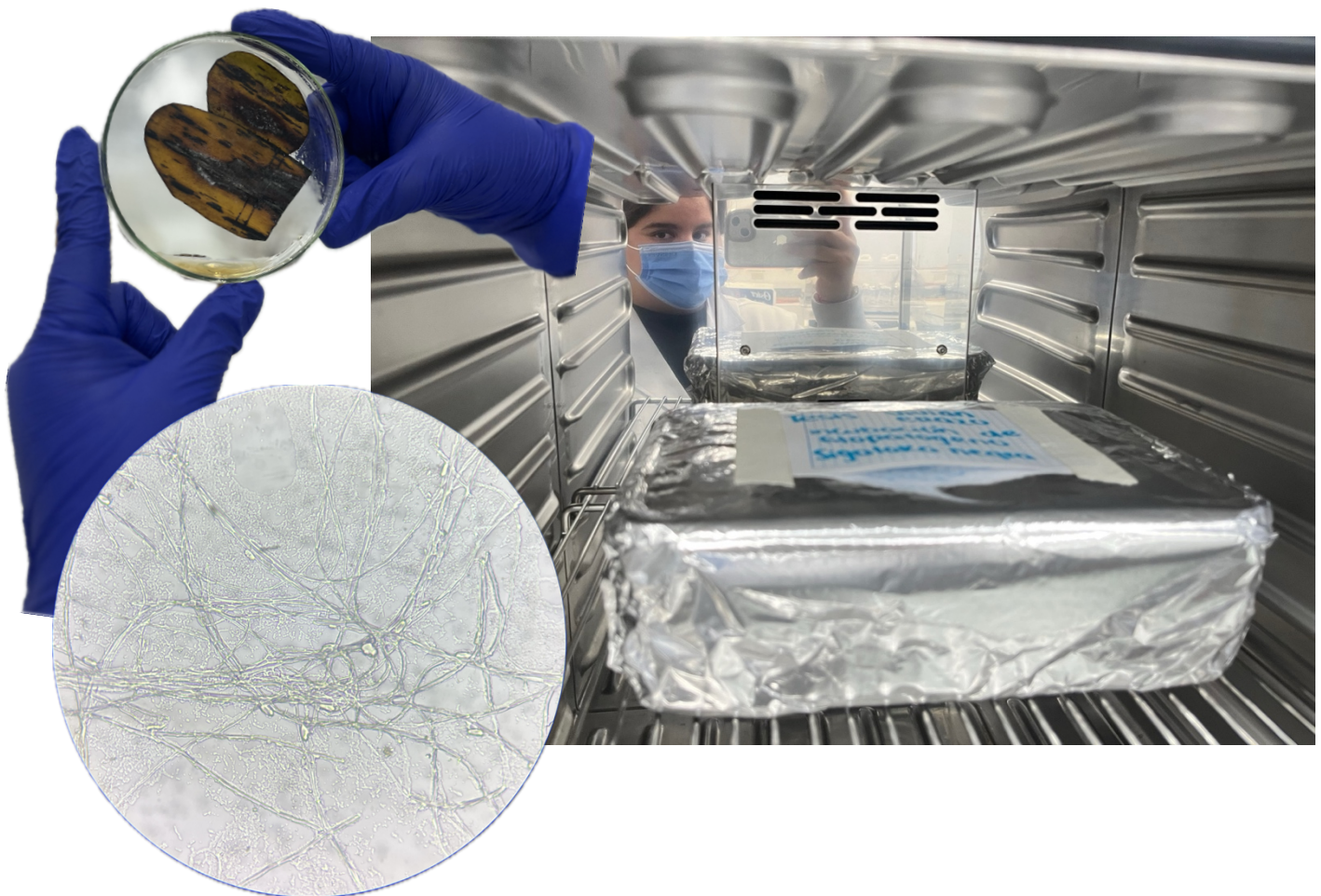
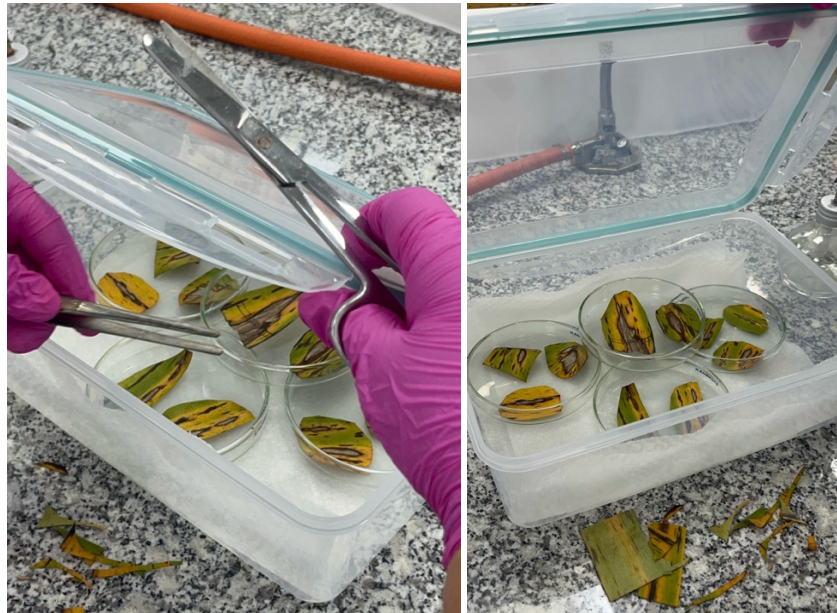


**Anexo 6.** *Recolección de las hojas de las hojas de banano afectados por *Mycosphaerella fijiensis**



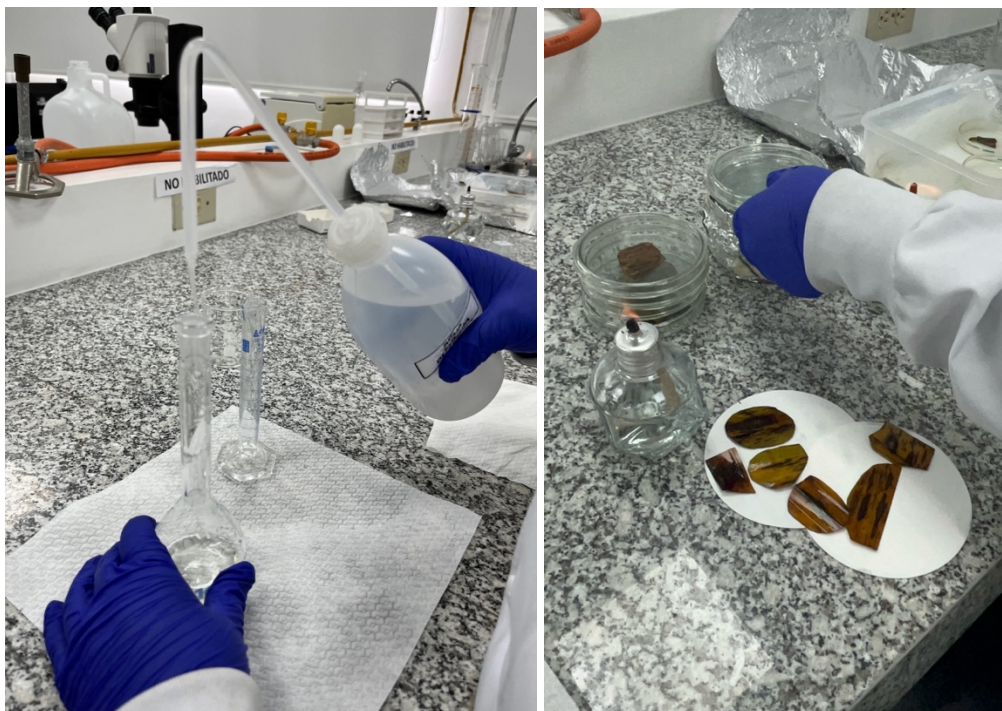


**Anexo 7.** *Preparación de la cámara húmeda, incubación a 7°C, resultados luego de las 24 horas y microscopia*

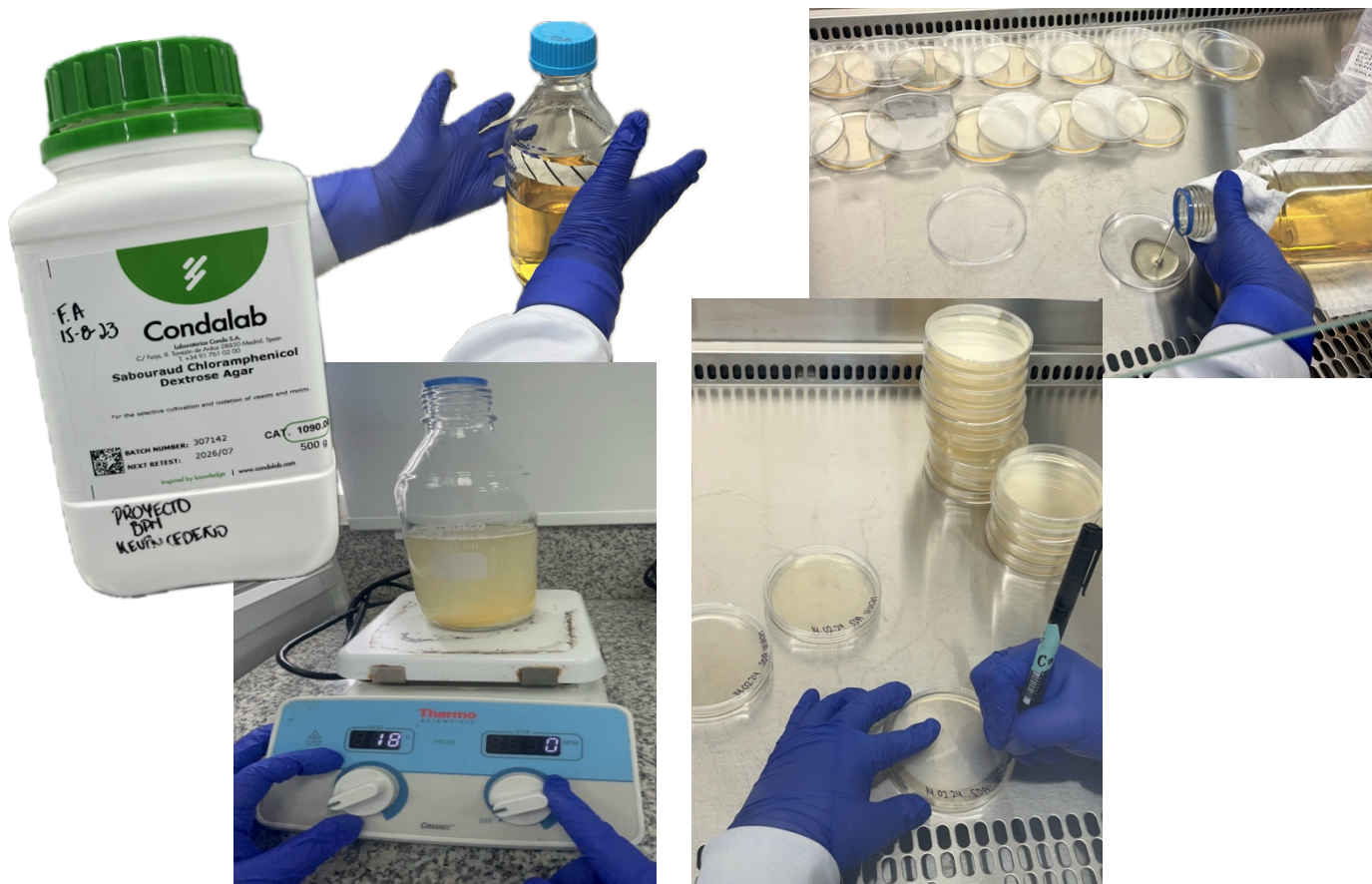




### Anexo 8. Preparación del hipoclorito de sodio al 1% y sembrado

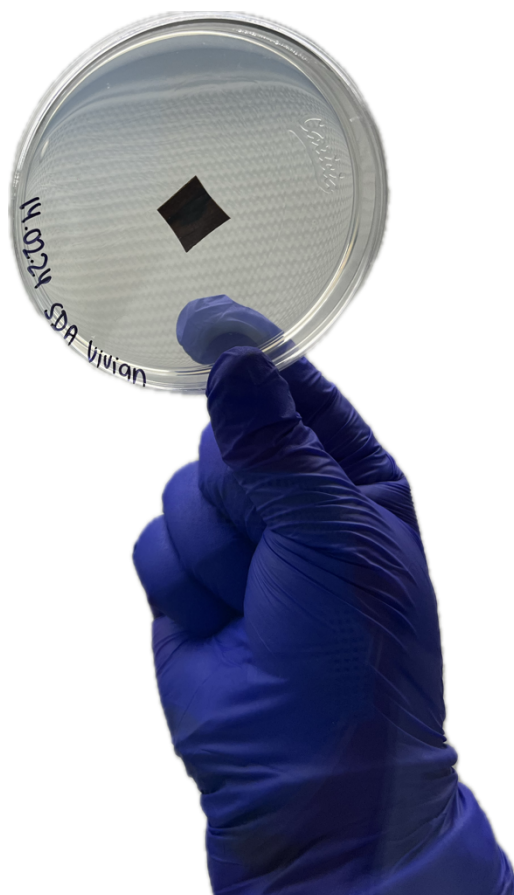
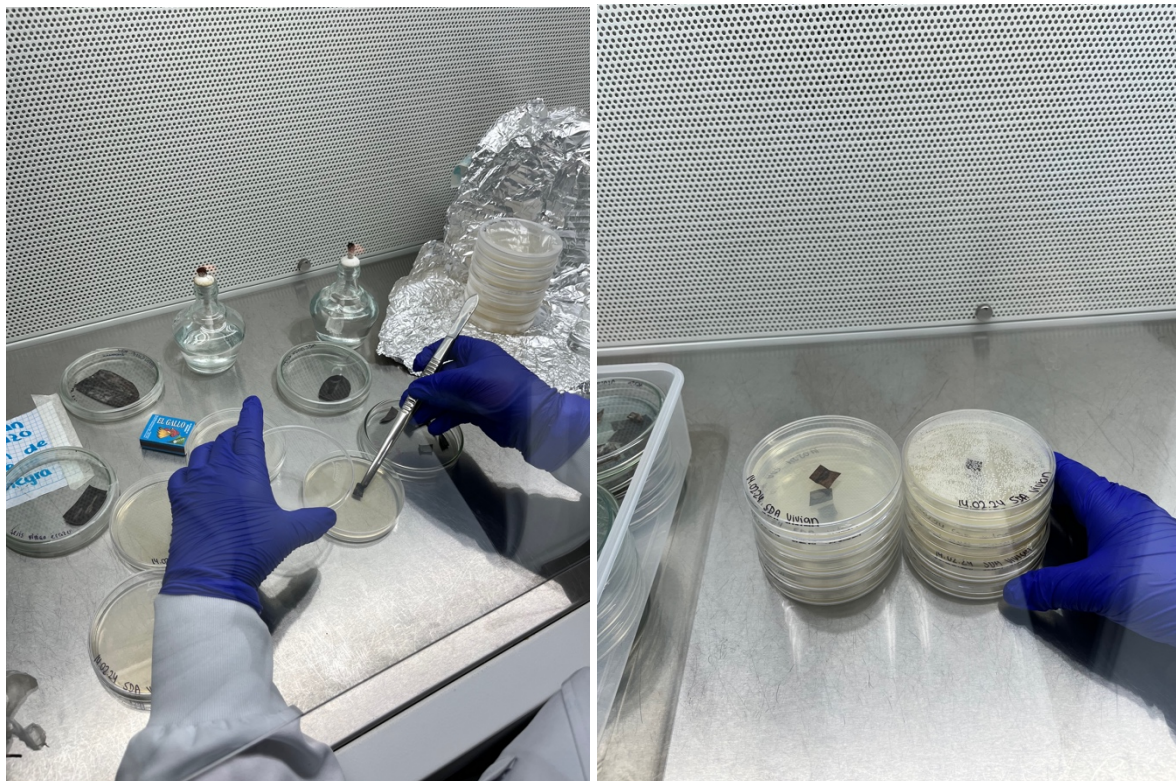


### Anexo 9. Preparación, dispensado y etiquetado del SDA

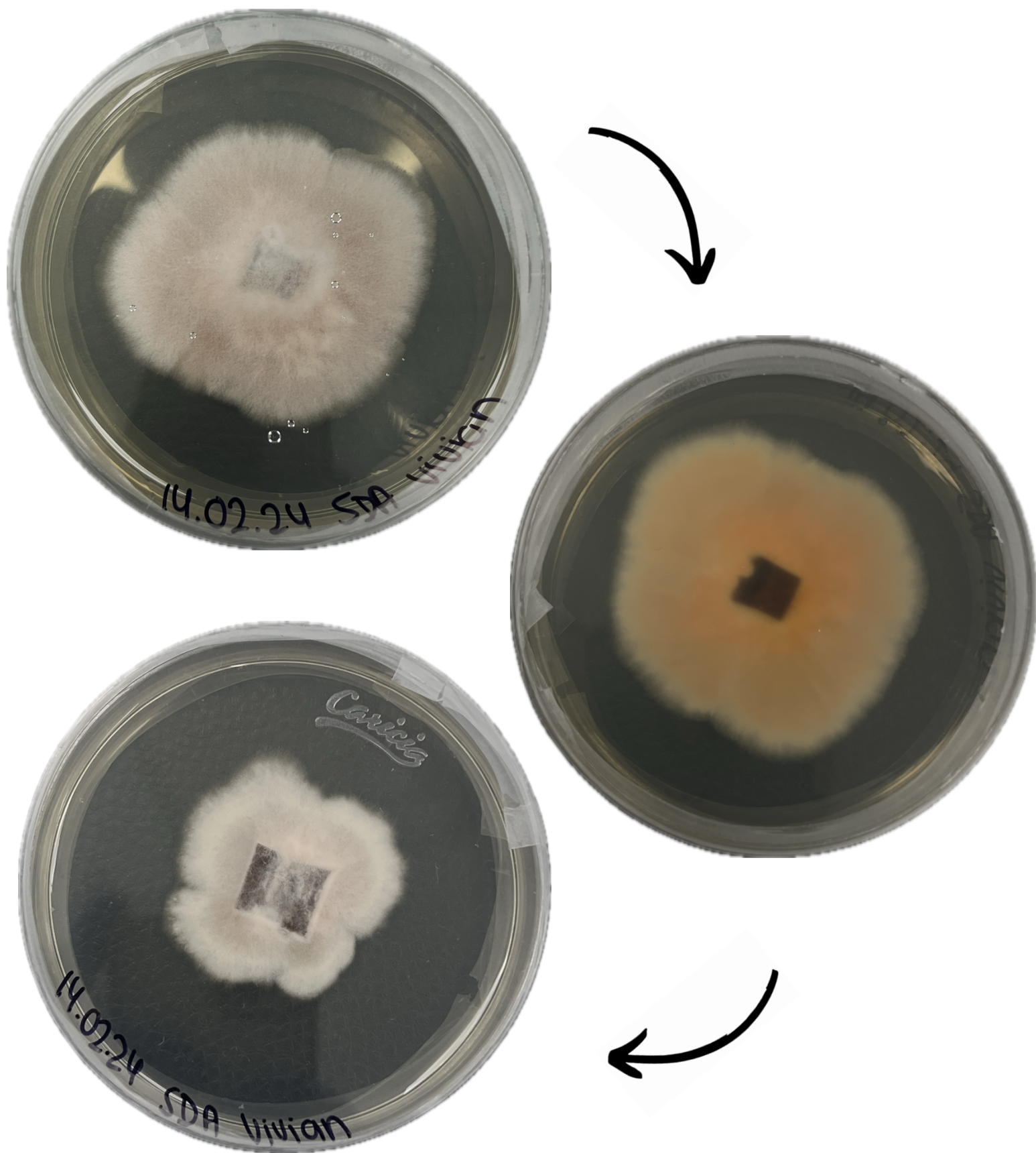




### Anexo 10. Inoculación del fitopatógeno en el SDA

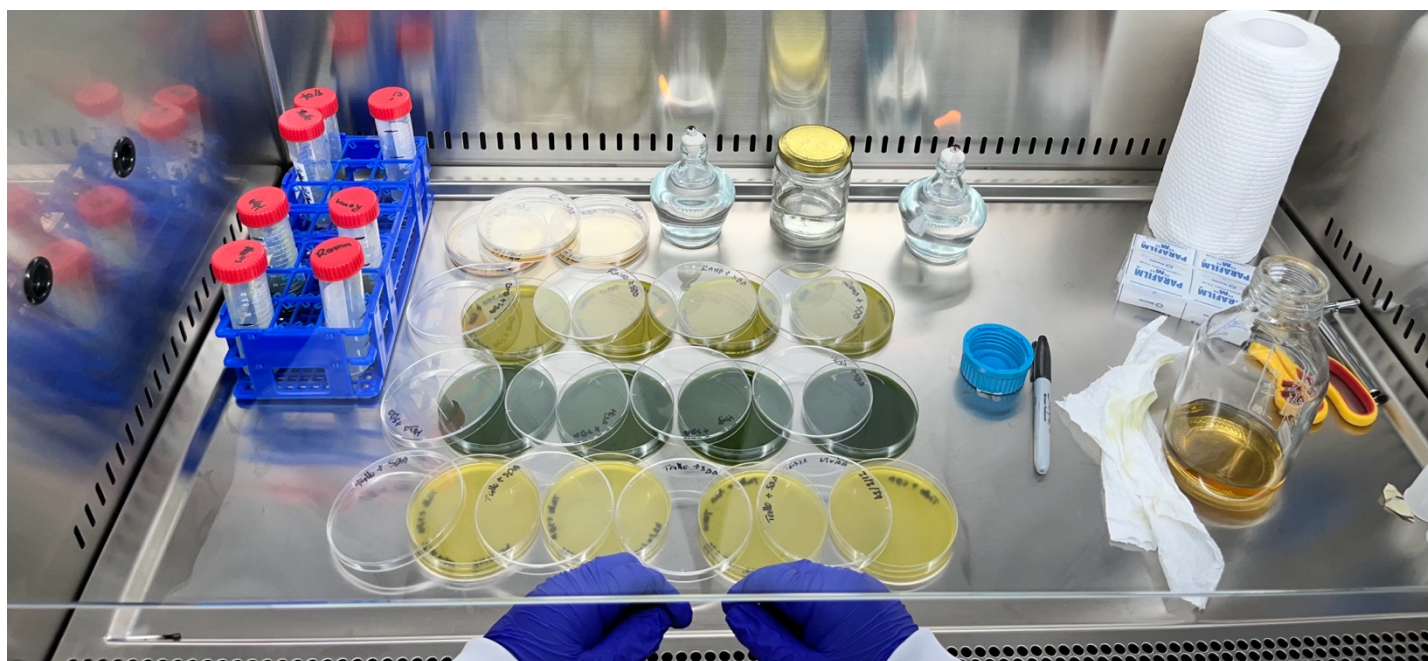
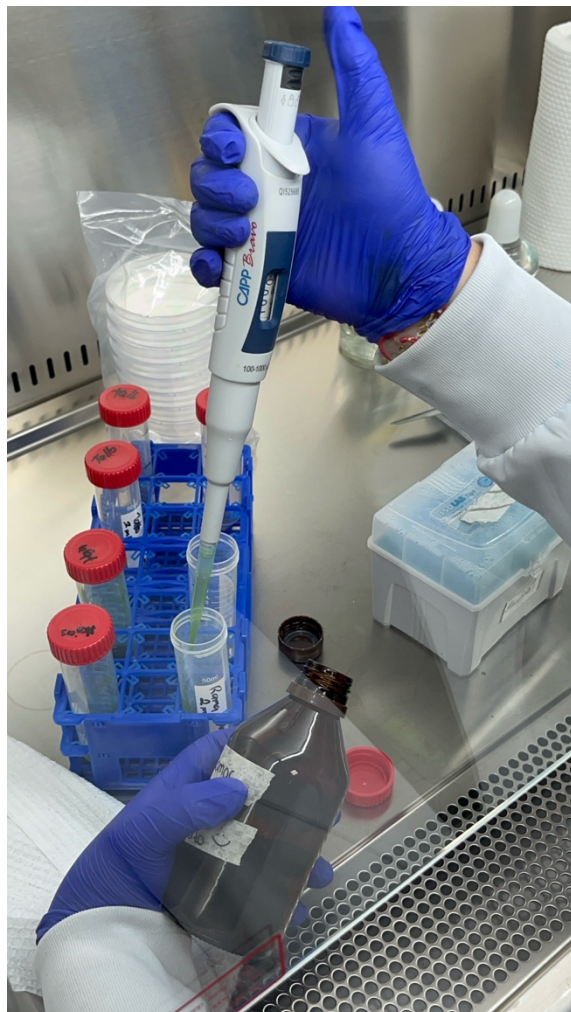


Anexo 11. Crecimiento del fitopatógeno



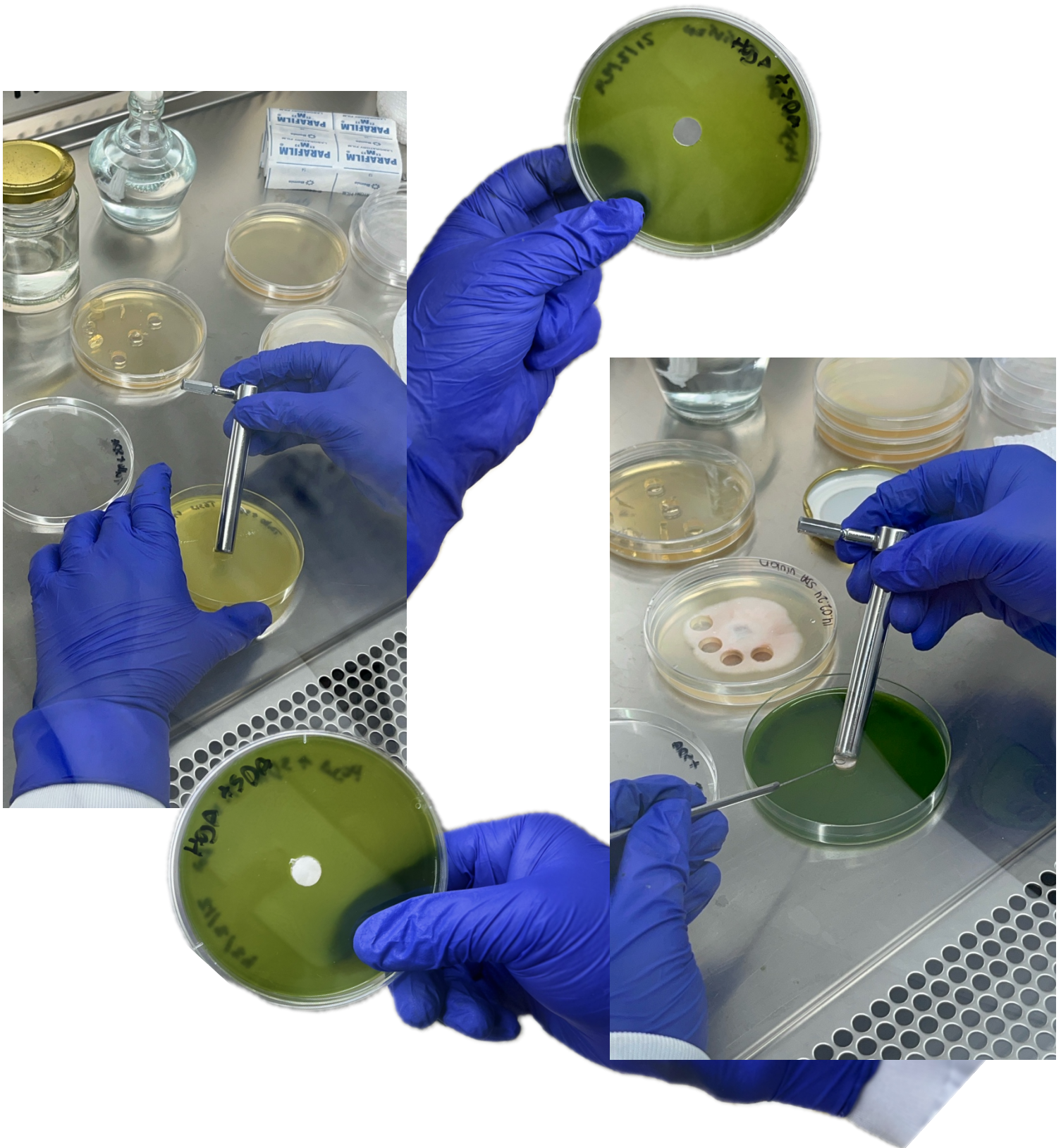


Anexo 12. Preparación del medio envenenado + control negativo



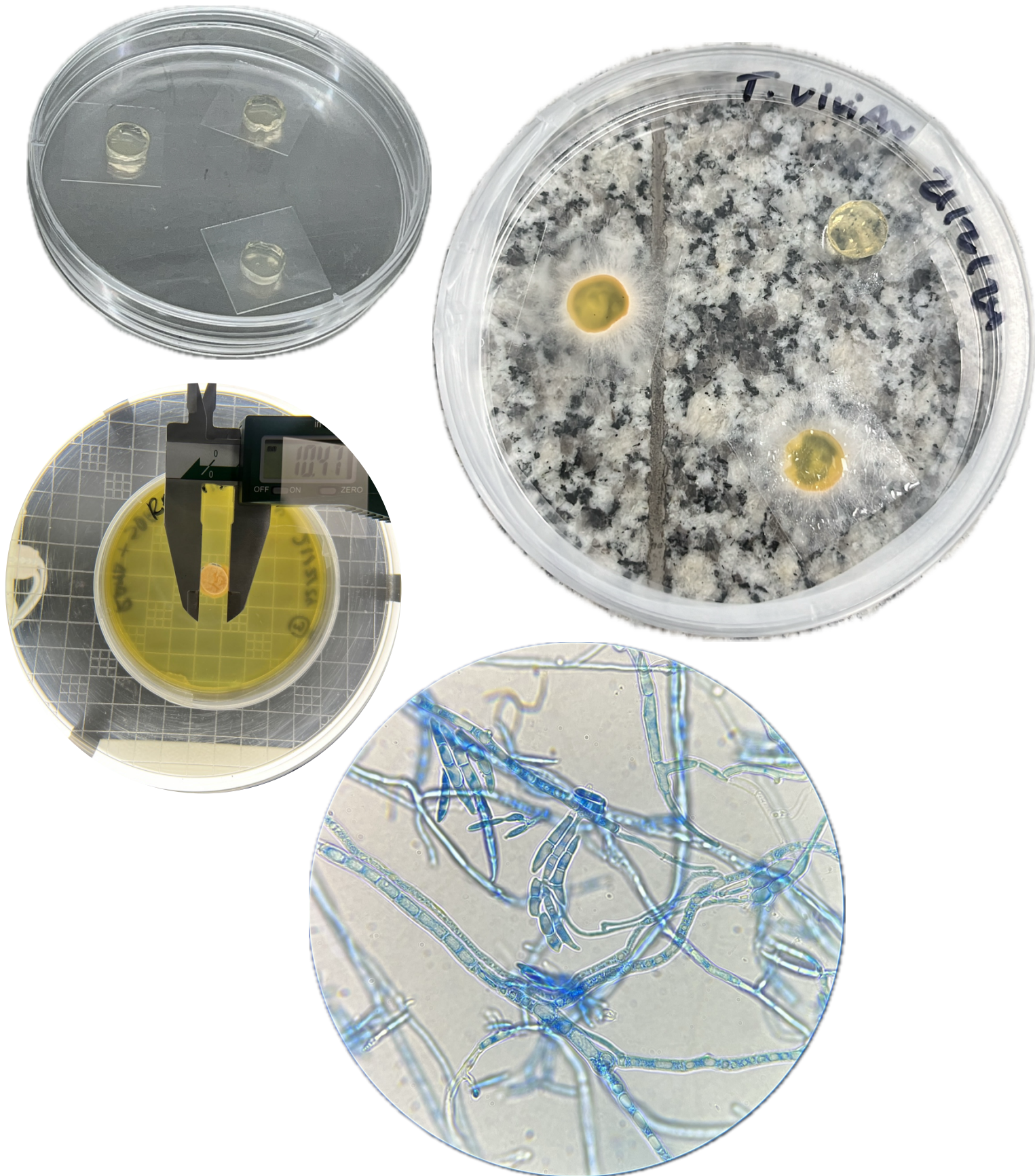


*Anexo 13. Inoculación del SDA mediante la técnica de punción*





**Anexo 14. Identificación microscópica del fitopatógeno, mediante azul de lactofenol**





**Anexo 15.** Observación de los controles + más el medio envenenado del crecimiento del fitopatógeno

