



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE AGROBIOLOGÍA "PRESIDENTE JUÁREZ"

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIA**

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de extractos de *Styrax ramirezii* Greenm. frente a *Fusarium oxysporum*

Tesis que presenta:

ING. CRISTINA AYALA MONDRAGÓN

Como requisito para obtener el grado de

Maestra en Ciencias Biológicas

DIRECTOR: DOCTOR EN BIOTECNOLOGÍA DE PLANTAS

PEDRO ANTONIO GARCÍA SAUCEDO

CODIRECTOR: DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS

ÁNGEL ABAD DEL RIO CHÁVEZ

Uruapan, Michoacán
Febrero 2026

ANEXO II. DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

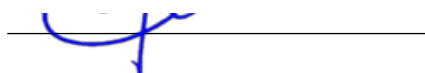
Declaración de originalidad El presente documento es producto del trabajo original de investigación de Cristina Ayala Mondragón, estudiante del Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas y respetando siempre los más altos estándares éticos solicitados por la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Todos los datos de la investigación reportada en el presente documento de tesis (excepto los indicados explícitamente en el texto), fueron obtenidos por Cristina Ayala Mondragón durante el periodo que fue estudiante de la Maestría en Ciencias Biológicas, bajo la Dirección del Dr. Pedro Antonio García Saucedo y la Co-Dirección del Dr. Ángel Adad del rio Chávez.

Morelia, Mich., a 20 de 02 de 2026

Ing.. Cristina Ayala Mondragón firma



Dr Pedro Antonio García Saucedo. firma



Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, UMSNH

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la fortaleza, la sabiduría y la perseverancia necesarias para culminar esta etapa tan importante en mi vida.

A mi esposo, **Valentín**, por su amor incondicional, paciencia y apoyo constante. Gracias por creer en mí incluso en los momentos más difíciles y por caminar a mi lado en cada paso de este proceso.

A mis hijos, **Keily**, **Danitza** y **Cristian**, quienes son mi mayor motivación. Gracias por su comprensión, por los momentos en que aceptaron mis ausencias y por ser la razón que me impulsa a superarme cada día.

A mis padres, por su ejemplo, valores y apoyo incondicional a lo largo de mi vida. Todo lo que soy también es gracias a ustedes.

A mis hermanos, por su cariño, palabras de aliento y confianza en mí.

A mis compañeros del laboratorio, por el apoyo, la colaboración y los momentos compartidos durante el desarrollo experimental de este trabajo.

A mi asesor, **Dr. Pedro Antonio García Saucedo**, por su confianza, guía académica, paciencia y acompañamiento durante todo el desarrollo de esta investigación. Gracias por creer en mi capacidad y por impulsarme a concluir este proyecto.

A mi codirector, **Dr. Ángel Adad del Río Chávez**, por sus valiosas aportaciones, paciencia orientación y apoyo en el fortalecimiento de este trabajo.

A mis sinodales, por el tiempo dedicado a la revisión de este manuscrito, por sus observaciones y recomendaciones que enriquecieron significativamente esta investigación.

Finalmente, a todas aquellas personas que, de manera directa o indirecta, me brindaron su apoyo, palabras de ánimo y colaboración para hacer posible la culminación de esta etapa académica.

ÍNDICE

I. RESUMEN GENERAL (EN ESPAÑOL.....	1
II. RESUMEN GENERAL (EN INGLÉS, SUMMARY).....	2
III. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	3
3.1 Hongos fitopatógenos	3
3.1.2 Los hongos fitopatógenos y la seguridad alimentaria	3
3.1.3 <i>Fusarium oxysporum</i>	4
3.2 Uso de pesticidas sintéticos y sus limitaciones	5
3.2.1 Impacto ambiental y en la salud humana	5
3.2.2 Resistencia a fungicidas en <i>Fusarium</i>	6
3.3 Alternativas sostenibles para el control de fitopatógenos	6
3.3.1 Extractos vegetales como alternativa de control	7
2.3.2 Daños morfológicos inducidos por extractos vegetales	8
3.4 Metabolitos secundarios	8
3.4.1 Clasificación de los metabolitos secundarios	9
3.4.1.1 Alcaloides	9
3.4.1.2 Fenoles	10
3.4.1.3 Terpenos	11
3.4.2 Obtención de metabolitos secundarios	11
3.4.2.1 Solventes para la obtención de metabolitos	11
3.4.2.2 Técnicas de extracción de metabolitos	12

3.4.3 Identificación de metabolitos	13
3.4.3.1 Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)	13
3.4.3.2 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS)	14
3.5 Género <i>Styrax</i>	14
3.5.1 Principales especies del género <i>Styrax</i>	15
3.5.2 Actividad biológica del género <i>Styrax</i>	17
3.5.3 <i>Styrax ramirezii</i> Greenm.	18
3.6. Justificación	18
3.7 Propósito y alcance del estudio.....	19
IV. HIPÓTESIS	20
V. OBJETIVOS	21
5.1 Objetivo general	21
5.2 Objetivos específicos	21
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	22
6.1 Obtención de extractos de <i>Styrax ramirezii</i>	22
6.2 Pruebas biológicas	21
6.3 Diseño experimental y análisis estadístico	26
6.4 Cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS).....	27
VII. RESULTADOS.....	29
7.1 Obtención de los extractos de hojas de <i>Styrax ramirezii</i>	29
7.1.1 Características generales de los extractos	29
7.1.2 Rendimiento de los extractos	29

7.2 Evaluación de la actividad antifúngica mediante el método de medio envenenado	30
7.2.1 Actividad antifúngica del extracto hexánico de hojas	31
7.2.1.1 Inhibición del crecimiento micelial	31
7.2.1.2 Análisis dosis–respuesta y CE ₅₀	34
7.2.1.3 Daños morfológicos en micelio y conidios	34
7.2.2 Actividad antifúngica del extracto de acetato de etilo de hojas	37
7.2.2.1 Inhibición del crecimiento micelial	37
7.2.2.2 Análisis dosis–respuesta y CE ₅₀	40
7.2.2.3 Daños morfológicos en micelio y conidios	41
7.3 Perfil fitoquímico del extracto hexánico de hojas	44
7.3.1 Identificación de metabolitos mediante GC/MS	44
7.4 Perfil fitoquímico del extracto de acetato de etilo de hojas	47
7.4.1 Identificación de metabolitos mediante GC/MS	47
7.5 Comparación de compuestos comunes de los extractos.....	51
VIII.DISCUSIÓN GENERAL.....	53
8.1 Rendimiento y características de los extractos.....	53
8.1.1 Influencia del solvente en la extracción.....	53
8.1.2 Influencia del solvente en el rendimiento de los extractos.....	53
8.2 Discusión de la actividad antifúngica del extracto hexánico.....	54
8.3 Discusión de la actividad antifúngica del extracto de acetato de etilo...56	56
8.4 Metabolitos del extracto hexánico asociados con la actividad antimicrobiana reportada.....	58

8.5 Metabolitos del extracto de acetato de etilo asociados con la actividad antimicrobiana reportada.....	61
8.7 Comparacion de perfiles fitoquimicos de los extractos.....	63
IX Perspectivas y recomendaciones.....	65
 X. CONCLUSIONES	 66
XI. LITERATURA CITADA.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de nicotina.....	9
Figura 2. Estructura química de un fenol.....	9
Figura 3. Estructura química general de los monoterpenos.....	10
Figura 4. Principales especies del género <i>Styrax</i> reportadas en estudios fitoquímicos y de actividad biológica.....	15
Figura 5. Ubicación de la recolecta de material.....	19
Figura 6. Prueba de sensibilidad contra el patógeno.....	21
Figura 7. Maceración de hojas de <i>Styrax ramirezii</i> con diferentes solventes.....	25
Figura 8. Rendimiento de los extractos de hoja de <i>Styrax ramirezii</i> obtenidos.....	26
Figura 9. Cepa utilizada para las pruebas biológicas (<i>Fusarium oxysporum</i>)...	27
Figura 10. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto hexánico de hoja frente a <i>Fusarium oxysporum</i> mediante el método de medio envenenado.....	29
Figura 11. Curva dosis–respuesta del extracto hexánico de <i>Styrax ramirezii</i> frente al crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i>	30

Figura 12. Curva dosis–respuesta y valor de EC ₅₀ del extracto hexánico de hoja frente a <i>Fusarium oxysporum</i>	31
Figura 13. Daños morfológicos en el micelio de <i>Fusarium oxysporum</i> observados mediante microscopía óptica tras el tratamiento con extracto hexánico de hoja.	33
Figura 14. Alteraciones en conidios de <i>Fusarium oxysporum</i> observadas por microscopía óptica (100×) tras el tratamiento con extracto hexánico de hoja.	34
Figura 15. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de acetato de etilo mediante el método de medio envenenado frente a <i>Fusarium oxysporum</i>	38
Figura 16. Curva dosis–respuesta del extracto de acetato de etilo de <i>Styrax ramirezii</i> frente al crecimiento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i>	39
Figura 17. Curva dosis–respuesta y valor de EC ₅₀ del extracto hexánico de hoja frente a <i>Fusarium oxysporum</i>	40
Figura 18. Daños morfológicos en el micelio de <i>Fusarium oxysporum</i> observados mediante microscopía óptica tras el tratamiento con extracto de acetato de etilo.....	41
Figura 19. Alteraciones en la producción y morfología de los conidios de <i>Fusarium oxysporum</i> observadas mediante microscopía óptica (100×) tras el tratamiento con extracto de acetato de etilo.....	
Figura 20. Cromatograma del extracto hexánico de hojas de <i>Styrax ramirezii</i> obtenido mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS).....	42
Figura 21. Cromatograma del extracto de acetato de etilo de hojas de <i>Styrax ramirezii</i> obtenido mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS).....	45

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos y concentraciones evaluadas en las pruebas antifúngicas contra <i>Fusarium oxysporum</i>	23
Cuadro 2. Compuestos totales obtenidos a partir del análisis GC/MS del extracto hexánico de la hoja de <i>Styrax ramirezii</i>	46
Cuadro 3. Compuestos totales obtenidos a partir del análisis GC/MS del extracto de acetato de etilo de la hoja de <i>Styrax ramirezii</i>	52
Cuadro 4. Comparacion de compuestos comunes del extracto de hoja de <i>Styrax ramirezii</i>	57

I.RESUMEN GENERAL (EN ESPAÑOL)

Los hongos fitopatógenos constituyen una de las principales causas de pérdidas agrícolas, destacando *Fusarium oxysporum* por su amplia distribución y capacidad infectiva. El uso intensivo de fungicidas sintéticos ha generado resistencia y efectos adversos en el ambiente y la salud, lo que hace necesaria la búsqueda de alternativas naturales.

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antifúngica de extractos de hojas de *Styrax ramirezii* y caracterizar su perfil fitoquímico mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). El material vegetal fue sometido a maceración con hexano y acetato de etilo, y los extractos obtenidos se evaluaron a distintas concentraciones mediante el método de medio envenenado frente a *Fusarium oxysporum*.

Ambos extractos mostraron un efecto inhibitorio dependiente de la concentración, alcanzando hasta un 100 % de inhibición del crecimiento micelial. El extracto de acetato de etilo presentó mayor eficacia al lograr inhibición a concentraciones más bajas en comparación con el extracto hexánico. Asimismo, se determinó la concentración efectiva media (EC_{50}), confirmando la potencia antifúngica y el efecto dosis–respuesta.

El análisis por GC/MS permitió identificar ácidos grasos, compuestos fenólicos, terpenos y estructuras tipo benzofurano, asociados con actividad antimicrobiana. Además, se detectó una lactona no reportada previamente en otras especies del género *Styrax*, lo que aporta un elemento de novedad al perfil fitoquímico de *S. ramirezii*.

Se concluye que los extractos de hoja de *Styrax ramirezii* presentan actividad antifúngica prometedora contra *Fusarium oxysporum*, con potencial aplicación en el manejo de fitopatógenos agrícolas. No obstante, se requieren estudios adicionales para aislar y evaluar los compuestos responsables de la bioactividad observada.

Palabras clave (español): *Fusarium oxysporum*; *Styrax ramirezii*; Actividad antifúngica; Perfil fitoquímico; Cromatografía de gases–espectrometría de masas (GC/MS).

II. RESUMEN GENERAL (EN INGLÉS, SUMMARY)

Phytopathogenic fungi represent one of the leading causes of agricultural losses worldwide, with *Fusarium oxysporum* standing out due to its wide distribution and high infective capacity. The intensive use of synthetic fungicides has led to the development of resistance and adverse environmental and health effects, highlighting the need for natural alternatives.

The aim of this study was to evaluate the antifungal activity of leaf extracts from *Styrax ramirezii* and to characterize their phytochemical profile by gas chromatography–mass spectrometry (GC/MS). Plant material was subjected to maceration using hexane and ethyl acetate, and the resulting extracts were tested at different concentrations using the poisoned medium technique against *Fusarium oxysporum*.

Both extracts exhibited concentration-dependent inhibitory effects, achieving up to 100% inhibition of mycelial growth. The ethyl acetate extract showed greater efficacy, reaching high inhibition levels at lower concentrations compared to the hexane extract. Additionally, the half maximal effective concentration (EC₅₀) was determined, confirming the antifungal potency and dose–response relationship.

GC/MS analysis revealed the presence of fatty acids, phenolic compounds, terpenes, and benzofuran-type structures associated with antimicrobial activity. Furthermore, a lactone not previously reported in other species of the genus *Styrax* was detected, contributing a novel element to the phytochemical profile of *S. ramirezii*.

In conclusion, leaf extracts of *Styrax ramirezii* exhibit promising antifungal activity against *Fusarium oxysporum*, suggesting their potential application in the management of agricultural phytopathogens. However, further studies are required to isolate and evaluate the compounds responsible for the observed bioactivity.

Keywords (English): *Fusarium oxysporum*; *Styrax ramirezii*; Antifungal activity; Phytochemical profile; Gas chromatography–mass spectrometry (GC/MS).

III.INTRODUCCIÓN GENERAL

3.1 Hongos fitopatógenos

Las enfermedades causadas por patógenos fúngicos han aumentado en varias regiones agrícolas del país, representando el grupo más amplio de agentes que afectan cultivos agrícolas, causando pérdidas significativas en la producción. (Degani 2025).

Estos patógenos afectan tanto la cantidad como la calidad de los cultivos, lo que genera pérdidas económicas significativas y pone en riesgo la seguridad alimentaria a nivel nacional e internacional.

Estudios estiman que estas amenazas afectan la producción agrícola (Savary et al., 2019), ya que cada año se pierde hasta el 40 por ciento de la producción mundial de cultivos debido a plagas y enfermedades, pérdidas que superan los 220 mil millones de dólares en la economía global (FAO, 2022).

Entre los hongos que causan grandes pérdidas económicas en cultivos importantes se incluyen géneros como *Botrytis*, *Puccinia*, *Rhizoctonia*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Mycosphaerella*, *Hemileia*, *Tilletia*, *Ceratocystis*, *Cochliobolus*, *Sclerotium*, *Sclerotinia*, *Erysiphe*, *Sphaerotheca*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Peronospora*, *Colletotrichum*, *Pestalotia* y *Fusarium* (El-Baky & Amara, 2021).

3.1.1 Los hongos fitopatógenos y la seguridad alimentaria

Los hongos que enferman las plantas representan una amenaza creciente para la seguridad alimentaria global, su impacto no solo afecta la producción de cultivos, sino que también reduce la calidad de los alimentos al generar micotoxinas, que persisten durante el almacenamiento. En este sentido, Ekwomadu y Mwanza (2023) destacan que patógenos como *Fusarium* y otros hongos fitopatógenos no solo causan pérdida en el cultivo, sino que también representan un riesgo para la seguridad alimentaria mundial y la salud de los consumidores.

3.1.2 *Fusarium oxysporum*

Es un hongo patógeno del suelo perteneciente al grupo de los ascomicetos, conocido por causar el síndrome vascular letal y afectar a una amplia variedad de plantas mediante marchitamiento (Gordon, 2017). Esta especie comprende más de 100 formas especiales (f. sp.), las cuales corresponden a cepas patógenas altamente especializadas que infectan hospedantes específicos a nivel mundial. Algunas de estas formas especiales afectan cultivos comerciales, como las zarzamoras, mientras que otras persisten de manera asintomática en el suelo o en reservorios naturales (Pastrana et al., 2020).

La marchitez por *Fusarium* es considerada una de las enfermedades más letales, ya que el hongo puede sobrevivir en el suelo durante más de veinte años sin control efectivo, diseminándose en diversos continentes y causando pérdidas económicas significativas (Martínez-Solórzano et al., 2020). Además, el hongo puede mantenerse viable incluso en ausencia de hospedantes, desarrollándose como saprófito sobre restos de plantas no hospedantes y formando clamidosporas, estructuras que le permiten adaptarse y sobrevivir en condiciones ambientales extremas (Ploetz et al., 2015).

Fusarium oxysporum representa una amenaza crítica para la producción agrícola mundial, infectando más de 150 especies de cultivos esenciales, y causando enfermedades vasculares graves (Bertoldo et al., 2014). Su presencia creciente en los ecosistemas agrícolas sugiere que podría consolidarse como uno de los patógenos fúngicos más significativos en el futuro (Cai et al., 2022).

En general, los patógenos de suelo, como *Fusarium* spp., constituyen un riesgo importante para cultivos de alto valor económico, provocando reducciones de rendimiento de hasta 50–75% en productos como trigo, maíz, algodón, frutas y hortalizas (Mihajlovic et al., 2017). Entre estos, *Fusarium oxysporum* destaca por su severidad y capacidad de comprometer seriamente la producción agrícola.

El impacto es enorme en escala global: la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) estima que decenas de miles de

hectáreas podrían quedar afectadas, con pérdidas millonarias en el comercio internacional de banano. Hasta ahora, las estrategias más efectivas se centran en la prevención, la cuarentena y el manejo fitosanitario riguroso, pues los fungicidas tradicionales o métodos de erradicación no han mostrado eficacia suficiente (FAO & IPPC, 2025).

3.2 Uso de pesticidas sintéticos y sus limitaciones

En las últimas décadas, el uso intensivo de fungicidas sintéticos ha proporcionado soluciones inmediatas para el control de enfermedades en los cultivos; sin embargo, su aplicación prolongada ha generado importantes desafíos para la sostenibilidad agrícola. Aunque estos compuestos han demostrado ser eficaces y de fácil acceso, su empleo continuo ha provocado alteraciones en la biodiversidad, los ciclos ecológicos y la fertilidad del suelo, además de contribuir al desequilibrio de los agroecosistemas (Gan & Wickings, 2017; Youssef et al., 2019; Mandal et al., 2020).

La protección de los cultivos frente a patógenos fúngicos sigue siendo fundamental para garantizar la seguridad alimentaria; sin embargo, la dependencia exclusiva de fungicidas químicos enfrenta limitaciones cada vez más evidentes. El uso repetido de estos productos ha promovido la aparición de resistencia en poblaciones de hongos fitopatógenos, junto con mayores restricciones regulatorias y preocupaciones ambientales, lo que pone en evidencia la necesidad de desarrollar estrategias alternativas y complementarias para el manejo fitosanitario (Lucas et al., 2025).

En este contexto, la reciente prohibición de diversas moléculas químicas en México, establecida en el *Decreto por el que se da a conocer el listado de plaguicidas que se determinan como prohibidos en territorio nacional* (publicado en el *Diario Oficial de la Federación* el 4 de septiembre de 2025), refleja un esfuerzo regulatorio para eliminar plaguicidas altamente peligrosos por sus efectos nocivos para la salud y el medio ambiente.

3.2.1 Impacto ambiental y en la salud humana

Además de los problemas asociados con la resistencia, la exposición a fungicidas sintéticos representa un riesgo significativo para la salud humana, particularmente para trabajadores agrícolas y comunidades cercanas a las zonas de cultivo. Diversos estudios han vinculado compuestos como la vinclozolina y el mancozeb con efectos adversos, incluyendo infertilidad y malformaciones congénitas (Quinteros et al., 2017).

De manera paralela, el impacto ambiental de estos agroquímicos incluye la contaminación del suelo y del agua, así como efectos negativos sobre organismos no objetivo. Las crecientes preocupaciones sobre los efectos de los pesticidas en la salud humana y el medio ambiente, junto con una mayor conciencia por parte de los consumidores y el impulso de políticas orientadas a la sostenibilidad, han llevado a la eliminación progresiva de varios fungicidas del mercado (Burandt et al., 2024). Como consecuencia, la presión sobre la producción agrícola y la estabilidad del suministro alimentario se ha intensificado, subrayando la necesidad urgente de desarrollar estrategias de control más seguras, sostenibles y eficaces.

3.2.2 Resistencia a fungicidas en *Fusarium*

El uso continuo de fungicidas ha favorecido la selección de cepas resistentes en diversos hongos fitopatógenos. Estudios recientes, como los realizados en cultivos ornamentales en Michigan, han reportado altos niveles de resistencia e incluso resistencia múltiple a fungicidas específicos, evidenciando la pérdida progresiva de eficacia de estos compuestos (Zhao et al., 2023).

Este fenómeno resulta particularmente preocupante en el caso del género *Fusarium*, el cual incluye especies responsables de enfermedades devastadoras en una amplia gama de cultivos agrícolas. Diversas especies de *Fusarium* han desarrollado resistencia a múltiples grupos de fungicidas químicos, lo que ha limitado seriamente la eficacia del control convencional (Naqvi et al., 2025). La reducción del arsenal químico disponible, sumada a la alta capacidad adaptativa de estos patógenos, incrementa el riesgo de pérdidas económicas, disminución del rendimiento agrícola y una mayor propagación de enfermedades fúngicas.

3.3 Alternativas sostenibles para el control de fitopatógenos

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura explica que el manejo integrado de plagas combina diferentes prácticas para producir cultivos sanos con menor uso de plaguicidas, reduciendo así riesgos para la salud humana y el medio ambiente (FAO, 2025).

La resistencia a los fungicidas ha emergido como uno de los mayores retos en la agricultura moderna, comprometiendo la efectividad de los tratamientos y exponiendo a los cultivos a mayores riesgos de infecciones masivas (Zhuo et al., 2023). En este contexto, el uso de alternativas sostenibles de origen natural, como los extractos vegetales, ha cobrado creciente interés por su potencial antifúngico y su menor impacto ambiental.

3.3.1 Extractos vegetales como alternativa de control

Los extractos vegetales se han consolidado como una estrategia efectiva para el control de enfermedades en plantas, al reducir significativamente la dependencia de pesticidas químicos y promover un enfoque más sostenible en la agricultura. En los últimos años, el interés por soluciones basadas en compuestos naturales ha crecido de manera considerable, abarcando desde bioestimulantes hasta biofungicidas, los cuales han demostrado su eficacia en el manejo de fitopatógenos (Isman, 2020).

Estos extractos presentan propiedades antimicrobianas que les permiten prevenir o inhibir el crecimiento de bacterias y hongos en plantas, y en algunos casos, en animales y humanos (Burt, 2004).

De manera más reciente, los metabolitos secundarios de plantas han surgido como alternativas prometedoras para el control de patógenos. Por ejemplo, Albarracín-Gómez et al. (2023) demostraron que el aceite esencial de *Lippia graveolens*, rico en compuestos como timol y carvacrol, logra inhibir al 100 % a *Fusarium oxysporum* a concentraciones de 0.20 y 0.25 µl/ml. De manera similar, Nguyen et al. (2021) identificaron en *Styrax tonkinensis* lignanos y triterpenoides con actividad antimicrobiana, evidenciando el potencial de las especies vegetales como fuentes de nuevos biofungicidas.

En este contexto, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) ha enfatizado la importancia de los productos naturales como herramientas clave para el desarrollo de nuevas estrategias de protección agrícola. Cada vez se reconoce con mayor énfasis el potencial de las especies vegetales y de sus derivados incluidos extractos, aceites esenciales, y metabolitos secundarios como alternativas sostenibles dentro del Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (MIPE), favoreciendo prácticas agrícolas más seguras y con menor impacto ambiental (Sparks et al., 2017).

3.3.2 Daños morfológicos inducidos por extractos vegetales

En los últimos años, diversos estudios han mostrado que los extractos vegetales no solo inhiben el crecimiento de hongos fitopatógenos, sino que también pueden causar daños en su estructura celular. Por ejemplo, en una investigación reciente se observó que los extractos de *Saussurea lappa*, aplicados sobre los hongos *Macrophoma phaseoloni* y *Fusarium solani*, provocaron alteraciones morfológicas importantes. A través de microscopía electrónica de barrido, se evidenció que estos extractos, causaron engrosamiento, distorsión y ruptura del micelio, así como pérdida de conidios y daños en la superficie celular. Incluso se observaron señales de estrés celular como vesiculación o descamación de la pared fúngica, lo que sugiere que los compuestos presentes en los extractos afectan directamente la integridad del hongo (Paparella et al., 2024). Estos hallazgos respaldan la idea de que los extractos vegetales no solo actúan como inhibidores del crecimiento fúngico, sino que su eficacia puede atribuirse a la presencia de metabolitos secundarios con actividad biológica. Por ello, resulta fundamental identificar y caracterizar los compuestos presentes en los extractos, ya que su estructura química y naturaleza funcional pueden explicar los efectos observados y aportar evidencia sobre su potencial como agentes antifúngicos.

3.4 Metabolitos secundarios

Las plantas producen metabolitos secundarios con potente actividad antimicrobiana como estrategia de defensa frente a patógenos y otros factores de estrés ambiental. Estos compuestos no solo protegen a la planta, sino que también pueden ser

aprovechados para desarrollar nuevas defensas antimicrobianas en otros organismos, incluso mediante la inducción de resistencia (Yang et al. 2024).

Se trata de moléculas que, aunque no participan directamente en los procesos esenciales de la vida, son fundamentales para la supervivencia vegetal, ya que facilitan su interacción con el entorno. Los metabolitos secundarios se acumulan en diferentes órganos de la planta hojas, raíces, flores, frutos, semillas o corteza y en etapas específicas del desarrollo, como la germinación, el crecimiento vegetativo, la fase reproductiva y la madurez, modulados por las condiciones ambientales (García-Morales & León-Morales, 2023).

Otro papel importante de estos compuestos es su participación en la señalización entre las plantas y los enemigos naturales de sus herbívoros. Este mecanismo, conocido como "defensa inducida", permite que la planta aumente la producción de metabolitos específicos en respuesta a una amenaza, atrayendo a depredadores de los herbívoros y contribuyendo al equilibrio del ecosistema (Devi et al., 2023). Entre los principales metabolitos implicados se encuentran alcaloides, compuestos fenólicos y terpenos, reconocidos por sus propiedades defensivas y bioactivas

3.4.1 Clasificación de los metabolitos secundarios

3.4.1.1 Alcaloides

Inicialmente, los alcaloides fueron definidos como compuestos nitrogenados básicos de origen vegetal con actividad farmacológica. Aunque esta definición ha evolucionado con el tiempo, sigue siendo aplicable en muchos casos. Muchos alcaloides descubiertos no muestran actividad farmacológica en mamíferos y algunos son neutros a pesar de contener átomos de nitrógeno en su estructura (Kim et al., 2016).

Desde el descubrimiento de la morfina (Figura 1), se han aislado más de 20,000 alcaloides de diversos organismos. Se estima que más del 9% de los géneros de plantas contienen especies que acumulan alcaloides, siendo estas especialmente comunes en géneros de angiospermas (plantas con flores) (Ncube & Staden, 2015).

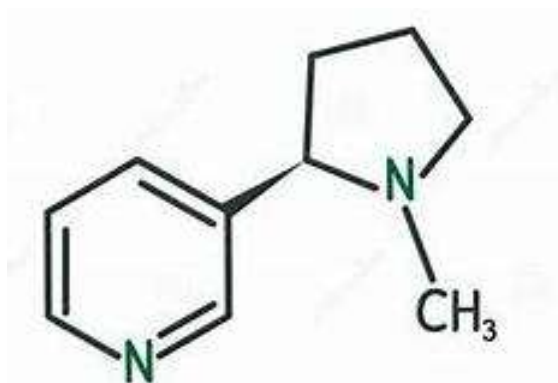


Fig. 1. Estructura química de la nicotina. Tomado de PubChem (2023).

3.4.1.2 Fenoles

Los compuestos fenólicos presentes en las plantas varían considerablemente en tamaño y estructura (Figura 2), pero todos comparten la característica de contener (o derivarse de) un anillo aromático de benceno (fenilo) con al menos un grupo hidroxilo unido (Caretto et al., 2015). El grupo hidroxilo en estos compuestos fenólicos es particularmente ácido debido a su ubicación en el anillo de benceno, lo que facilita la estabilización de un sustituyente de oxígeno desprotonado. Esta propiedad hace que los compuestos fenólicos sean altamente reactivos y fundamentales en la síntesis de polímeros como ligninas y suberinas, así como en la formación de una amplia gama de compuestos que desempeñan roles esenciales en múltiples aspectos de la biología vegetal (Ncube & Staden, 2015).

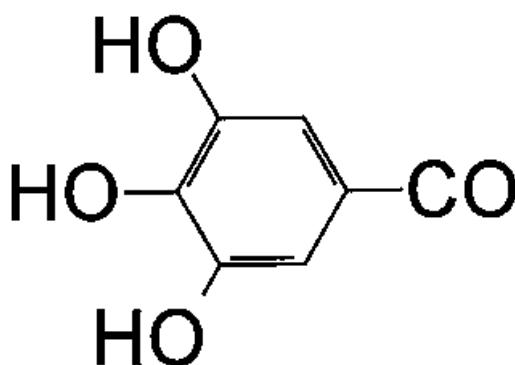


Fig. 2. Estructura química de un fenol. Tomado de PubChem (2023).

3.4.1.3 Terpenos

Los terpenos, también conocidos como isoprenoides, son los principales componentes de los aceites vegetales y son responsables de los aromas y sabores característicos de las plantas. Estos compuestos se derivan del isopreno, una unidad de cinco átomos de carbono. Los terpenos pueden estar formados por una a ocho o más unidades de isopreno, organizadas de manera lineal o cíclica, como en el caso del escualeno y el limoneno (Figura 3).

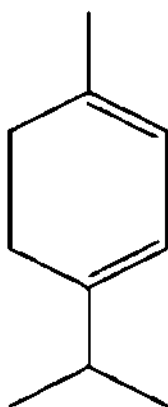


Fig. 3. Estructura química general de los monoterpenos. Tomado de PubChem (2023).

Presentes en casi todas las formas de vida, los terpenos son extremadamente diversos en las plantas, donde cumplen diversas funciones debido a sus estructuras variadas (Shrader & Bohlman, 2015). Por ejemplo, el sesquiterpeno (E)- cariofileno, que se encuentra en aromas florales, actúa como señal de defensa contra patógenos (Huang et al., 2012). Estos metabolitos secundarios protegen a las plantas contra herbívoros y enfermedades, inhiben el crecimiento de plantas competidoras, y atraen animales que dispersan semillas y polen (Buchanan, 2015).

3.4.2 Obtención de metabolitos secundarios

3.4.2.1 Solventes para obtención de metabolitos secundarios

Sharma, Bishnoi y Mathur (2021) demostraron que la polaridad del solvente es un factor clave en la eficiencia de extracción de compuestos bioactivos vegetales, ya

que los solventes más polares como etanol y acetato de etilo lograron un mayor rendimiento de metabolitos antioxidantes y antimicrobianos en comparación con solventes menos polares. Esta perspectiva permite no solo optimizar el rendimiento, sino también garantizar una mejor caracterización de los metabolitos presentes en los extractos vegetales (Abubakar & Haque, 2020).

3.4.2.2 Técnicas de extracción de metabolitos secundarios

Omeroglu, Ingle y Manousi (2019) describen que las técnicas clásicas de extracción sólido-líquido, como la maceración, la extracción por Soxhlet y la destilación, se han utilizado tradicionalmente para obtener metabolitos secundarios de plantas debido a su simplicidad y efectividad.

- **Extracción por soxhlet**

El aparato soxhlet, inventado por Franz von Soxhlet en 1879, sigue siendo utilizado hasta hoy en día debido a su eficiencia (Heleno et al., 2015). Esta técnica de extracción ofrece rendimientos superiores a la maceración y requiere menor cantidad de disolvente (Palma et al., 2013). Es especialmente útil para extraer compuestos oleosos de extractos vegetales, utilizando frecuentemente hexano como disolvente (DaPorto et al., 2016).

- **Destilación con agua y/o vapor**

La destilación por arrastre de vapor se destaca como la técnica más adecuada para la extracción de compuestos volátiles, como los aceites esenciales, debido a su eficiencia en la captura de estos metabolitos sin descomponer sus componentes activos. Este método es ampliamente utilizado en la industria para la obtención de aceites esenciales a partir de plantas, optimizando la recuperación de compuestos con alto valor comercial y terapéutico. La capacidad de esta técnica para preservar la integridad de los compuestos volátiles la convierte en una herramienta indispensable en la extracción industrial de metabolitos secundarios (Flor-Peregrín et al., 2017). En este método de destilación por arrastre de vapor, los compuestos volátiles presentes en la matriz vegetal son sometidos a altas temperaturas, permitiendo su vaporización mediante la acción del vapor de agua. Estos compuestos, al absorber el calor, se difunden en el vapor y se transportan hacia un

condensador donde el vapor se enfría. Este proceso da lugar a la separación de las fases: el aceite esencial, que es inmiscible con el agua, se acumula en la parte superior del decantador, mientras que el hidrosol, que contiene agua y algunos compuestos hidrolizados, queda en la fase inferior. Esta separación permite una eficiente recuperación de los aceites esenciales, manteniendo sus propiedades volátiles intactas (Ciriminna et al., 2016).

- **Extracción por maceración**

La obtención de metabolitos secundarios a partir de plantas se realiza comúnmente mediante técnicas convencionales de extracción sólido-líquido. Estos métodos consisten en poner en contacto el material vegetal seco y triturado con un solvente adecuado, permitiendo que los compuestos bioactivos se disuelvan. Dependiendo del procedimiento, la extracción puede llevarse a cabo a temperatura ambiente, como sucede en la maceración, o mediante la aplicación de calor, como en la técnica Soxhlet. En ambos casos, el objetivo es lograr una extracción completa y eficiente de los compuestos de interés presentes en la planta (Sarria-Villa et al., 2017).

Este proceso generalmente se realiza a temperatura ambiente, aunque a veces se aumenta la temperatura para mejorar la extracción. Sin embargo, este aumento de temperatura puede resultar en la degradación de compuestos sensibles al calor (Chen et al., 2016).

3.4.3 Identificación de metabolitos

3.4.3.1 Cromatografía líquida de alto rendimiento o, HPLC

La cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) es una técnica analítica ampliamente empleada para separar los componentes de una mezcla, facilitando tanto su identificación como su cuantificación en una gran variedad de matrices químicas y bioquímicas. En esta técnica, una muestra líquida se inyecta en un flujo de fase móvil presurizada que pasa a través de una columna con fase estacionaria, donde los analitos se separan según sus interacciones fisicoquímicas con ambas fases y son detectados por un detector adecuado para cuantificación y confirmación. Además, en los últimos años, la HPLC ha experimentado avances

instrumentales significativos que han permitido su acoplamiento con diferentes tipos de detectores (como UV-Vis, DAD, fluorescencia, electroquímicos, espectrometría de masas, entre otros), ampliando considerablemente su versatilidad y su aplicación en el análisis de compuestos complejos (Ali, 2022). La HPLC es una herramienta multifuncional que permite la purificación, identificación y cuantificación de un analito específico, lo que la convierte en un método valioso tanto para análisis como para preparaciones. Su relevancia es considerable en diversas industrias, tales como la farmacéutica, alimentaria, bioquímica, química y de subproductos químicos, además de ser fundamental en áreas como la medicina clínica y el análisis forense (Iriarte Perdigón, 2022).

3.4.3.2 Cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS)

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) es una técnica analítica altamente versátil que se complementa eficazmente con otros métodos, ya que permite la identificación y cuantificación de metabolitos y compuestos volátiles, tanto polares como no polares, presentes en diversas matrices. La GC-MS de alta resolución (HR) se distingue como una plataforma avanzada capaz de proporcionar datos detallados sobre analitos que, por lo general, no son accesibles mediante técnicas convencionales de cromatografía líquida o espectrometría de masas (Misra, 2021).

En este contexto, la aplicación de GC-MS resulta especialmente relevante, ya que permite identificar con precisión los metabolitos secundarios responsables de la actividad biológica observada. Diversas especies del género *Styrax* han demostrado poseer compuestos de este tipo, tales como ácidos grasos, triterpenoides, lignanos y derivados fenólicos, los cuales han sido asociados con efectos antifúngicos, antibacterianos y antioxidantes.

3.5 Género *Styrax*

Las investigaciones dedicadas a las especies del género *Styrax* han permitido el descubrimiento e identificación de más de 160 metabolitos secundarios con relevancia bioquímica. Estos compuestos incluyen flavonoides, terpenoides, cumarinas y, de manera predominante, lignanos, los cuales han despertado un notable interés debido a su potencial farmacológico y biológico.

Diversos estudios han demostrado que las especies del género *Styrax* constituyen una fuente rica y diversa de metabolitos secundarios con actividad biológica. En particular, se ha documentado su actividad antimicrobiana significativa frente a múltiples cepas bacterianas y hongos fitopatógenos, lo que resalta su potencial para el desarrollo de antimicrobianos de origen natural (Gebbinck, 2002).

Los lignanos representan el grupo de compuestos más característico del género *Styrax* e incluyen estructuras como benzofuranos, tetrahidrofuranos y furofuranos. Estos metabolitos se localizan principalmente en el núcleo del tallo y han sido reportados en distintas especies del género. El avance en la caracterización de estos compuestos no solo ha ampliado el conocimiento sobre la química del género *Styrax*, sino que también ha abierto nuevas perspectivas para su aprovechamiento en aplicaciones biotecnológicas y agrícolas (Pauletti et al., 2006; Ninh et al., 2021).

3.5.1 Principales especies del género *Styrax*

Diversas especies del género *Styrax* han sido objeto de estudio debido a su riqueza en metabolitos secundarios con actividad biológica. Entre las más investigadas se encuentran *Styrax perkinsiae*, *S. ferrugineus*, *S. macranthus*, *S. obassia*, *S. camporum*, *S. japonica* y *S. officinalis* L., en las cuales se ha documentado la presencia de lignanos y otros compuestos con propiedades antimicrobianas relevantes (Pauletti et al., 2006).

Estas especies han sido analizadas mediante diferentes enfoques fitoquímicos y biológicos, permitiendo la identificación de compuestos con potencial actividad frente a microorganismos de interés agrícola y médico. En la **Figura 4** se muestran algunas de las especies del género *Styrax* que han sido más ampliamente investigadas, mientras que en el **Cuadro 1** se presentan los principales metabolitos aislados de estas plantas, los cuales han demostrado propiedades antimicrobianas significativas (Xia et al., 2023).

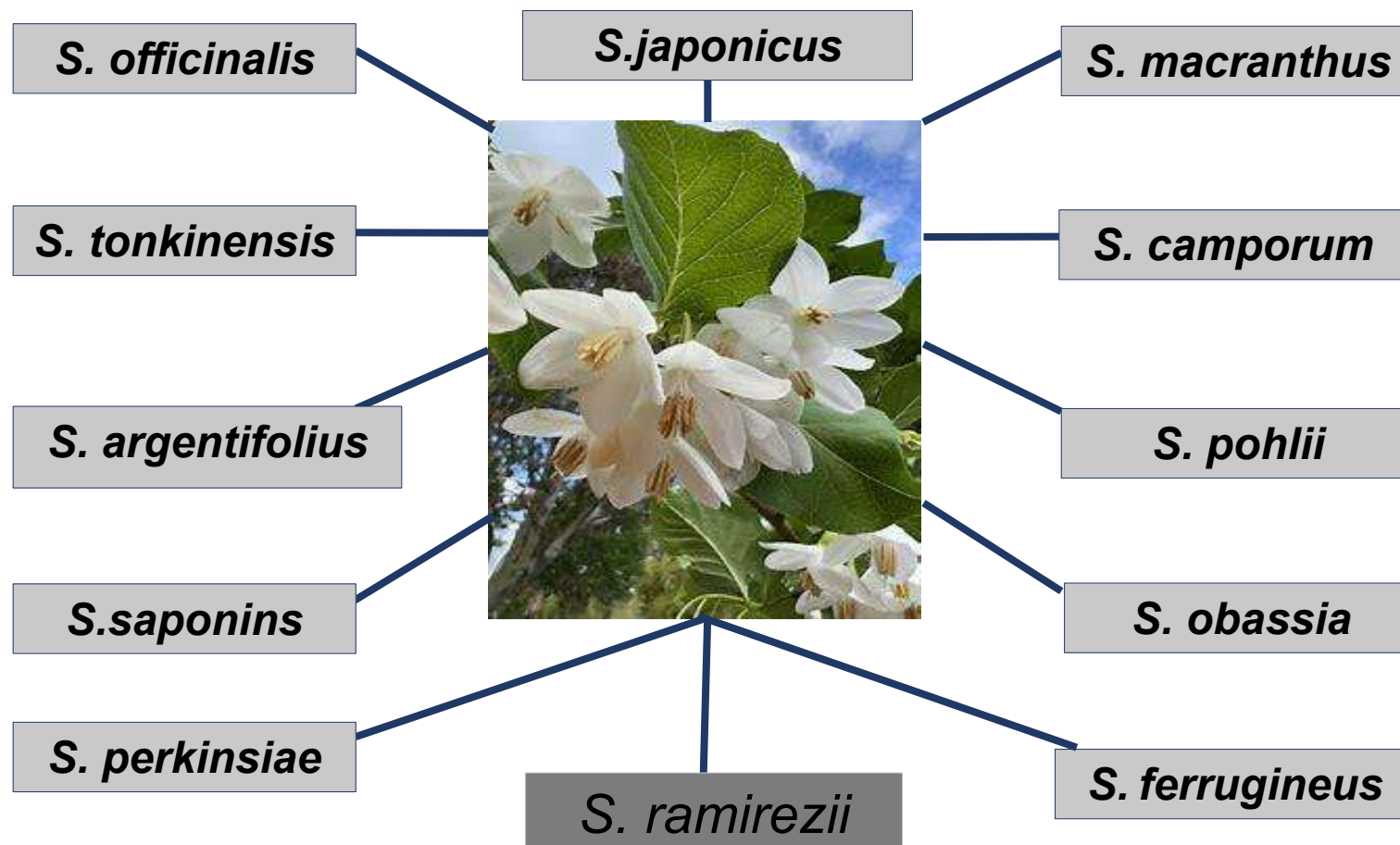


Fig. 4. Principales especies del género *Styrax* reportadas en estudios fitoquímicos y de actividad biológica. Tomado de Xia et al. (2023).

3.5.2 Actividad biológica del género *Styrax*

Las especies del género *Styrax* han sido ampliamente estudiadas por su notable actividad biológica, particularmente en relación con sus propiedades citotóxicas y antifúngicas, atribuidas principalmente a la diversidad de metabolitos secundarios presentes en sus diferentes órganos vegetales (Xia et al. 2023).

- **Actividad citotóxica**

Diversos estudios han revelado que varios compuestos aislados de especies del género *Styrax* exhiben propiedades citotóxicas significativas frente a una amplia gama de líneas celulares cancerosas. Estos metabolitos han demostrado una marcada capacidad para inhibir el crecimiento y la proliferación de células malignas, posicionándose como candidatos prometedores para el desarrollo de nuevos agentes anticancerígenos. En este sentido, Wang et al. (2006) destacaron el potencial terapéutico de compuestos derivados de *Styrax*, los cuales podrían desempeñar un papel relevante en el diseño de nuevas estrategias farmacológicas para el tratamiento del cáncer.

- **Actividad antifúngica**

El género *Styrax* también ha demostrado un notable potencial como fuente de compuestos naturales con actividad antifúngica. Una revisión reciente realizada por Paparella et al. (2024) señala que diversas especies, como *S. officinalis*, *S. ferrugineus* y *S. suberifolius*, presentan una alta capacidad para inhibir el crecimiento de distintos hongos patógenos.

Por ejemplo, el extracto metanólico de frutos de *S. officinalis* fue capaz de inhibir completamente el crecimiento de *Phytophthora infestans*, mientras que su extracto orgánico mostró una actividad significativa frente a *Candida albicans*, con una concentración inhibitoria mínima de 12.5 mg/mL. Asimismo, se ha reportado que extractos obtenidos de frutos de *Styrax officinalis* inhiben de manera significativa el crecimiento micelial de *Alternaria solani*, un hongo fitopatógeno de importancia agrícola (Yanar et al., 2011).

De igual forma, Andrade et al. (2010) evaluaron extractos de diversas especies vegetales, incluyendo *Styrax pohlii*, encontrando que esta especie presentó una

notable inhibición del crecimiento de *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal de la antracnosis del frijol.

En conjunto, estos hallazgos reafirman la relevancia de las especies del género *Styrax* como una alternativa prometedora en la búsqueda de soluciones naturales frente a patógenos fúngicos.

3.5.3 *Styrax ramirezzi* Greenm

Es una especie arbórea perenne endémica de México, cuya distribución natural se concentra principalmente en los bosques templados del estado de Michoacán. Este árbol puede alcanzar alturas de entre 5 y 15 metros y se caracteriza por producir frutos en forma de drupa elipsoide, considerados comestibles por pobladores locales (Timmers et al. 2015). A pesar de su presencia en ecosistemas ricos en biodiversidad, los estudios fitoquímicos sobre esta especie son escasos. Su potencial como fuente de metabolitos secundarios con actividad biológica sigue siendo poco explorado, lo que resalta la importancia de investigaciones orientadas a conocer su composición química y evaluar sus posibles aplicaciones farmacológicas o agrobiotecnológicas.

3.6 Justificación

La creciente resistencia de *Fusarium oxysporum* a fungicidas sintéticos y las restricciones regulatorias actuales evidencian la necesidad urgente de desarrollar alternativas más seguras y sostenibles.

En este contexto, la evaluación de extractos vegetales provenientes de especies nativas como *Styrax ramirezii* no solo contribuye a la búsqueda de nuevos compuestos antifúngicos, sino que también promueve el estudio y valorización de la biodiversidad nacional.

El análisis fitoquímico mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) permite identificar metabolitos potencialmente responsables de la actividad biológica, estableciendo bases científicas para futuros estudios de aislamiento, caracterización estructural y evaluación funcional.

3.7 Propósito y alcance del estudio

El propósito de este trabajo fue evaluar la actividad antifúngica de extractos de hojas de *Styrax ramirezii* frente a *Fusarium oxysporum*, así como caracterizar su perfil fitoquímico mediante GC/MS.

El alcance del estudio comprende la determinación del efecto inhibitorio a diferentes concentraciones, el análisis de la respuesta dosis–efecto y la identificación de metabolitos secundarios presentes en los extractos.

Los resultados obtenidos buscan aportar evidencia científica sobre el potencial antifúngico de esta especie vegetal y sentar las bases para investigaciones posteriores orientadas al aislamiento de compuestos bioactivos y su posible aplicación en el manejo sostenible de fitopatógenos agrícolas.

IV.HIPÓTESIS

Los extractos de hoja de *Styrax ramirezii* obtenidos con solventes de diferente polaridad inhiben de manera dependiente de la concentración el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, efecto asociado a la presencia de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, terpenos, ácidos grasos, los cuales contribuyen a alteraciones en el desarrollo micelial y la formación de conidios.

V. OBJETIVOS

5.1-Objetivo general

Evaluar la actividad antifúngica y caracterizar el perfil fitoquímico de extractos de hoja de *Styrax ramirezii* frente a *Fusarium oxysporum*

5.2-Objetivos específicos

1. Generar un protocolo para la obtención del extracto de hoja de *Styrax ramirezii*.
2. Evaluar el potencial inhibitorio de los extractos sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum*.
3. Generar un perfil fitoquímico del extracto de hoja de *Styrax ramirezii* mediante análisis de GC/MS.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en la Facultad Agrobiología “Presidente Juárez” en el Laboratorio de Bromatología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

6.1 Obtención de extractos de *Styrax ramirezii*

- **Recolección del material vegetal**

La recolección se realizó en los bosques de San Miguel Charahuén, municipio de Pátzcuaro, Michoacán. Localizado a una Latitud de 19.46921° o 19° 28' 9" norte y una Longitud de -101.7005° o 101° 42' 2" oeste, y una Altitud de 2,381 metros.



Fig. 5. Ubicación de la colecta de material. *Tomado de Google Maps (2024).*

Las muestras seleccionadas fueron fisiológica y sanitariamente adecuadas. La localización de los ejemplares de *Styrax ramirezii* se realizará con base en información de estudios previos desarrollados en el Laboratorio de Bromatología, y complementada con el conocimiento local de pobladores de la zona.

Las hojas fueron recolectadas manualmente. El material vegetal se colocó en cajas de cartón para su traslado al Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ubicado en Uruapan, Michoacán.

- **Maceración de extractos crudos**

El material vegetal (hojas) se procesó mediante maceración con solventes orgánicos (hexano y acetato de etilo) en una proporción 1:5 (p/v), durante 15 días a temperatura ambiente y en ausencia de luz. Los frascos se agitaron diariamente durante cinco minutos.

Este procedimiento concuerda con metodologías de maceración reportadas en la literatura para la obtención de metabolitos bioactivos, donde se emplea la extracción a temperatura ambiente, en oscuridad y con agitación periódica, independientemente del solvente utilizado (Hernández-Reyes et al., 2024). y se concentraron a presión reducida mediante rotavapor (Heidolph, 2000).

- **Filtración y concentración**

Trascurrido el tiempo de maceración se filtraron los extractos utilizando papel filtro Whatman No. 4. La fase recuperada (extracto crudo), se concentró utilizando un rotavapor (modelo Heidolph, año 2000).

- **Almacenamiento de los extractos**

Los extractos crudos fueron almacenados en frascos de vidrio sellados. En condiciones de refrigeración a 4 °C.

- **Prueba de rendimiento**

Para la evaluación del rendimiento del extracto, se utilizó un matraz Erlenmeyer previamente llevado a peso constante. En este matraz se colocó 500 mL del extracto crudo, volumen que corresponde a la totalidad del líquido obtenido a partir de la materia vegetal extraída (P_0). Posteriormente, el matraz con el extracto se sometió a la eliminación del solvente mediante un rotavapor, siguiendo la metodología descrita por Harwood y Moody (1989). Una vez eliminado completamente el solvente, el extracto se llevó a sequedad y se obtuvo el peso final. Este valor se registró como el peso del matraz con el extracto seco. El rendimiento del extracto se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso del extracto seco (g)}}{\text{Peso del material vegetal seco (g)} \times 100}$$

Fórmula empleada ampliamente en estudios de extracción de metabolitos secundarios en plantas medicinales, tal como se describe en metodologías fitoquímicas estandarizadas (Harborne, 1998; Azwanida, 2015).

6.2. Pruebas biológicas

- **Material fúngico**

Se utilizó la cepa de hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* donada por el Laboratorio de biotecnología vegetal del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.

- **Reactivación de la cepa**

La cepa de *Fusarium oxysporum* se reactivó mediante siembra en medio PDA (Papa Dextrosa Agar). Se colocó un fragmento de micelio conservado en refrigeración sobre el centro de una caja Petri con PDA estéril y se incubó a 28 °C durante 5 a 7 días hasta que se observó un crecimiento micelial abundante.

- **Evaluación de la actividad antifúngica mediante el método de medio envenenado**

La evaluación de la actividad antifúngica se realizó mediante el método de medio envenenado, siguiendo el procedimiento descrito por Ramesh et al. (2018), El extracto se mezcló con PDA antes de la solidificación para obtener las concentraciones deseadas.

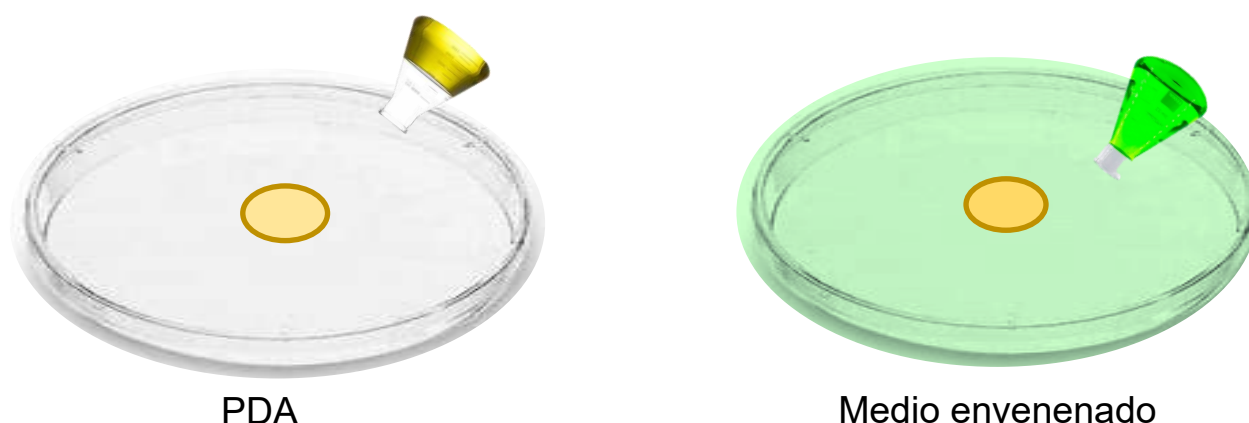


Fig. 6. Prueba de sensibilidad contra el patógeno.

- **Obtención del extracto vegetal**

El extracto vegetal se obtuvo de la especie *Styrax ramirezii* Greenm. y se evaluó a diferentes concentraciones.

- **Preparación del medio de cultivo**

Se utilizará agar papa dextrosa (PDA) como medio de cultivo para el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* W.C. Snyder & H.N. Hansen (Hypocreales: Nectriaceae). El medio se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 15 minutos para asegurar la eliminación de contaminantes. Una vez esterilizado, en estado líquido, se añadió el extracto vegetal a la concentración correspondiente. La mezcla se agitó suavemente para asegurar una distribución homogénea del extracto y evitar la formación de burbujas. Posteriormente, el medio con el extracto se filtró con una jeringa a través de un microfiltro estéril y vertió en cajas Petri estériles, permitiendo su solidificación a temperatura ambiente.

- **Preparación de los extractos para bioensayos**

Con la finalidad de evaluar la actividad biológica de los extractos obtenidos, estos fueron resuspendidos en una mezcla de hexano y etanol (80:20, v/v), lo que permitió obtener soluciones homogéneas adecuadas para su posterior aplicación en los bioensayos.

- **Inoculación y evaluación del crecimiento fúngico**

Después de la solidificación del medio, se colocó un disco de micelio activo de *F. oxysporum* en el centro de cada caja Petri. El experimento se realizó con seis repeticiones por concentración. Las cajas se incubarán a temperatura ambiente, y se registró el crecimiento micelial del hongo cada 24 horas durante seis días o hasta que el testigo alcanzó su crecimiento máximo. El crecimiento radial se midió en milímetros con un calibrador digital Vernier (Vince, DCLA0805). A partir de los datos obtenidos, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial en comparación con el testigo, determinando así la eficacia antifúngica de los extractos de hoja de *S. ramirezii*.

6.3 Diseño experimental y análisis estadístico

- **Diseño experimental**

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar (DCA), con seis repeticiones por tratamiento. Se evaluaron diferentes concentraciones de extractos de hojas de *Styrax ramirezii*, obtenidos con distintos solventes, así como tres tipos de controles: negativo, de solvente y positivo.

El control negativo consistió de medio de cultivo PDA sin la adición de extracto. El control fue conformado por PDA adicionado con la misma cantidad de solvente (hexano–alcohol) utilizada para la resuspensión de los extractos, con el fin de descartar posibles efectos atribuibles al solvente. El control positivo consistió de un fungicida comercial Tecto® 60 (Tiabendazol), aplicado a la dosis recomendada por el fabricante.

Cada unidad experimental consistió en una caja Petri, y la evaluación antifúngica se realizó mediante el método de medio envenenado.

Cuadro 1. Tratamientos y concentraciones evaluadas en las pruebas

Tipo	Tratamiento	Solvente / Medio
Control negativo	Medio de cultivo PDA	PDA
Control de solvente	Solvente sin extracto	Hexano–alcohol
Control positivo	Fungicida comercial Tecto® 60	—
Tratamiento experimental	Extracto de hojas de <i>Styrax ramirezii</i>	Hexano

- **Análisis estadístico**

Los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallis, debido a que los datos no cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Una vez encontradas las diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$), se efectuó comparaciones múltiples con ajuste Bonferroni.

Todos los análisis se realizaron en el software R versión 4.5.1

- **La concentración efectiva media (EC₅₀)**

Se estimó mediante un modelo de dosis–respuesta ajustada con el modelo log-logístico de cuatro parámetros (LL.3) en R (v.4.5.1) usando el paquete drc. El modelo se describe como:

$$y = c + (d - c) / (1 + \exp[b(\log(x) - \log(e))])$$

donde y es el porcentaje de inhibición, x la concentración del extracto (mg/mL), c y d los límites inferior y superior, b la pendiente y e el parámetro correspondiente a la EC₅₀.

El ajuste se realizó con los valores promedio de inhibición por concentración. La EC₅₀ y su intervalo de confianza al 95 %.

6.4 Cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS)

El análisis químico de los extractos de *Styrax ramirezii* se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

Las muestras fueron analizadas en un sistema de cromatografía de gases Agilent 7890A (Agilent Technologies, EE. UU.), equipado con una columna capilar HP-5MS (5 % fenil–metilsiloxano, 60 m × 0.25 mm × 0.25 μm; Agilent Technologies, EE. UU.), acoplado a un espectrómetro de masas de cuadrupolo con ionización por impacto electrónico Hewlett Packard 5975C (Hewlett Packard, EE. UU.).

La temperatura inicial del horno se programó a 60 °C durante 1 min, posteriormente se incrementó hasta 280 °C a una tasa de 8 °C min⁻¹. La temperatura del inyector

y de la fuente de ionización se mantuvo a 230 °C, mientras que la temperatura del cuadrupolo se fijó en 150 °C.

Se utilizó helio como gas portador a un flujo constante de 1 mL min⁻¹. El espectrómetro operó en modo de ionización por impacto electrónico (EI) a 70 eV, con un rango de detección de masa–carga (*m/z*) de 50–500 y un voltaje de –1737 V.

Los cromatogramas de iones totales (TIC) fueron procesados mediante el software MSChem (Agilent Technologies, EE. UU.). La identificación de los compuestos se realizó comparando los espectros de masas obtenidos con las bases de datos Wiley 275 y la biblioteca del National Institute of Standards and Technology (NIST), versión 2.0.

La cuantificación relativa de los compuestos se estimó mediante una curva de calibración estándar empleando 1,8-cineol como compuesto de referencia, en un intervalo de concentración de 0.2–1.0 mg mL⁻¹.

VII. RESULTADOS

7.1 Obtención de los extractos de hojas de *Styrax ramirezii*

Durante el proceso de obtención de los extractos de hoja de *Styrax ramirezii*, se observaron diferencias visuales entre los extractos obtenidos con hexano y acetato de etilo.

El extracto hexánico presentó una coloración más clara y menor viscosidad, mientras que el extracto obtenido con acetato de etilo mostró una coloración más intensa y mayor consistencia. La Fig. 7 muestra el proceso de maceración y las características visuales finales de ambos extractos.

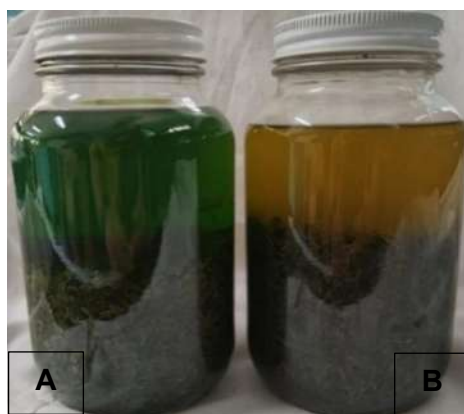


Fig. 7. Maceración de hojas de *Styrax ramirezii* con diferentes solventes. (A) Hexano. (B) Acetato de etilo.

7.1.1 Características generales de los extractos

Tras la evaporación del solvente, se obtuvieron extractos crudos con características físicas diferenciadas según el solvente empleado. El extracto obtenido con acetato de etilo presentó una mayor cantidad de residuo sólido y una coloración más intensa en comparación con el extracto hexánico, el cual mostró menor masa final y una consistencia más oleosa.

7.1.2. Rendimiento de los extractos

El rendimiento de los extractos crudos de hojas de *Styrax ramirezii* varió según el solvente empleado.

El extracto obtenido con acetato de etilo presentó un rendimiento de 7.5 %, mientras que el extracto hexánico mostró un rendimiento de 1.2 %. La Figura. 8 muestra el rendimiento porcentual de ambos extractos tras la evaporación del solvente.



Fig. 8. Rendimiento de los extractos de hoja de *Styrax ramirezii* obtenidos con (A) hexano y (B) acetato de etilo tras la evaporación del solvente.

7.2. Evaluación de la actividad antifúngica mediante el método de medio envenenado

La actividad antifúngica de los extractos hexánico y de acetato de etilo obtenidos de hojas de *Styrax ramirezii* fue evaluada frente a *Fusarium oxysporum* mediante el método de medio envenenado.

La Figura. 9 muestra la cepa de *Fusarium oxysporum* utilizada en las pruebas biológicas.



Fig. 9. Cepa de *Fusarium oxysporum* empleada en las pruebas de actividad antifúngica.

7.2.1 Actividad antifúngica del extracto hexánico de hojas

7.2.1.1 Inhibición del crecimiento micelial

El extracto hexánico de hojas de *Styrax ramirezii* redujo el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* de manera dependiente de la concentración evaluada.

En las placas de cultivo se observó disminución progresiva del crecimiento en comparación con el control negativo (PDA) y el control de solvente (hexano–alcohol), mientras que el control positivo (Tecto® 60) inhibió completamente el crecimiento del patógeno (Fig. 10).

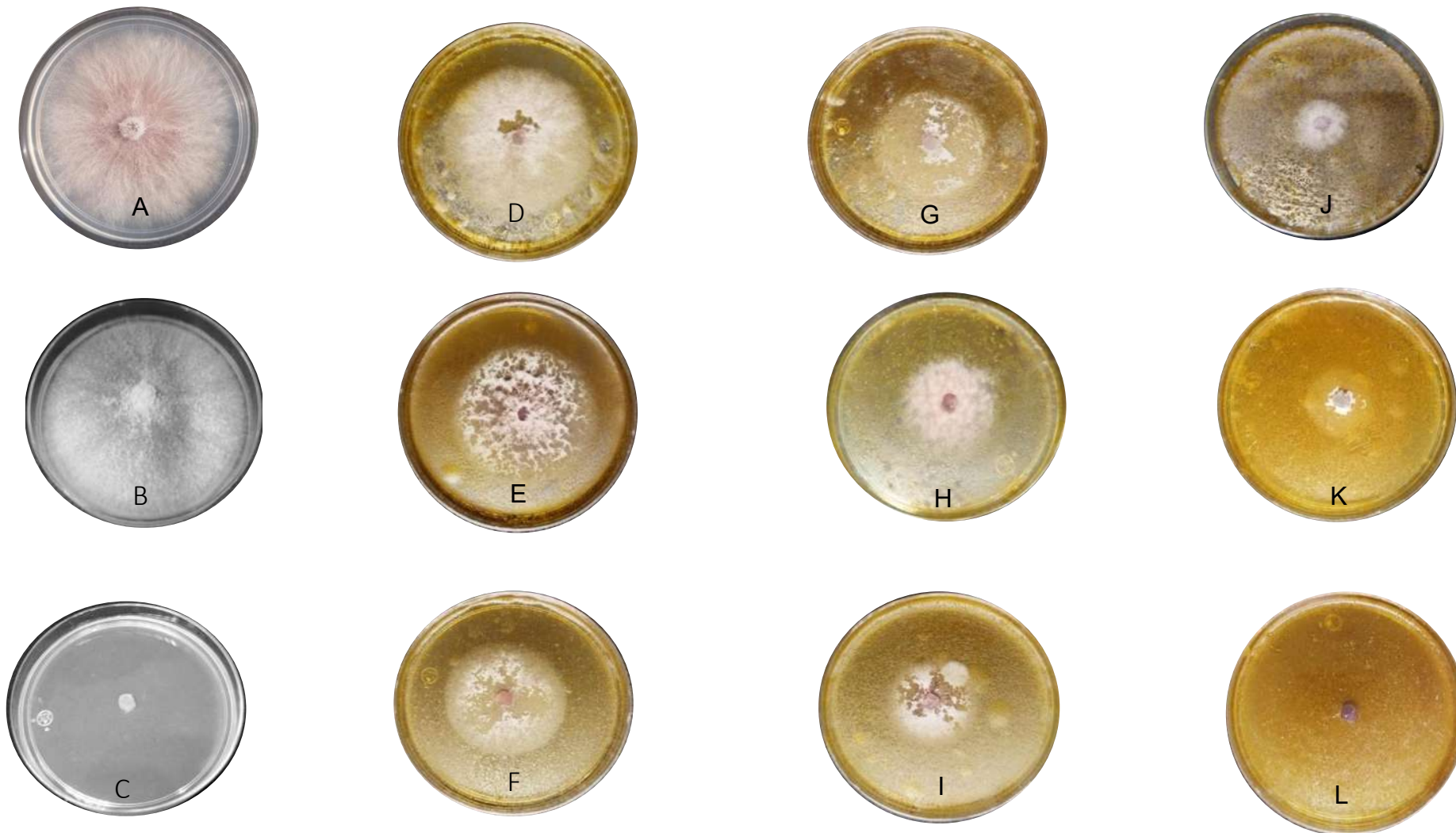


Fig. 10. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto hexánico de hoja frente a *Fusarium oxysporum* mediante el método de medio envenenado.

(A) Control negativo (PDA), (B) control de solvente (hexano–alcohol), (C) control positivo (Tecto® 60). (D–L) Extracto hexánico a concentraciones de 10–50 mg/mL.

El porcentaje de inhibición mostró diferencias significativas entre tratamientos (Fig. 11). El extracto alcanzó una inhibición del 100 % a la concentración de 50 mg/mL.

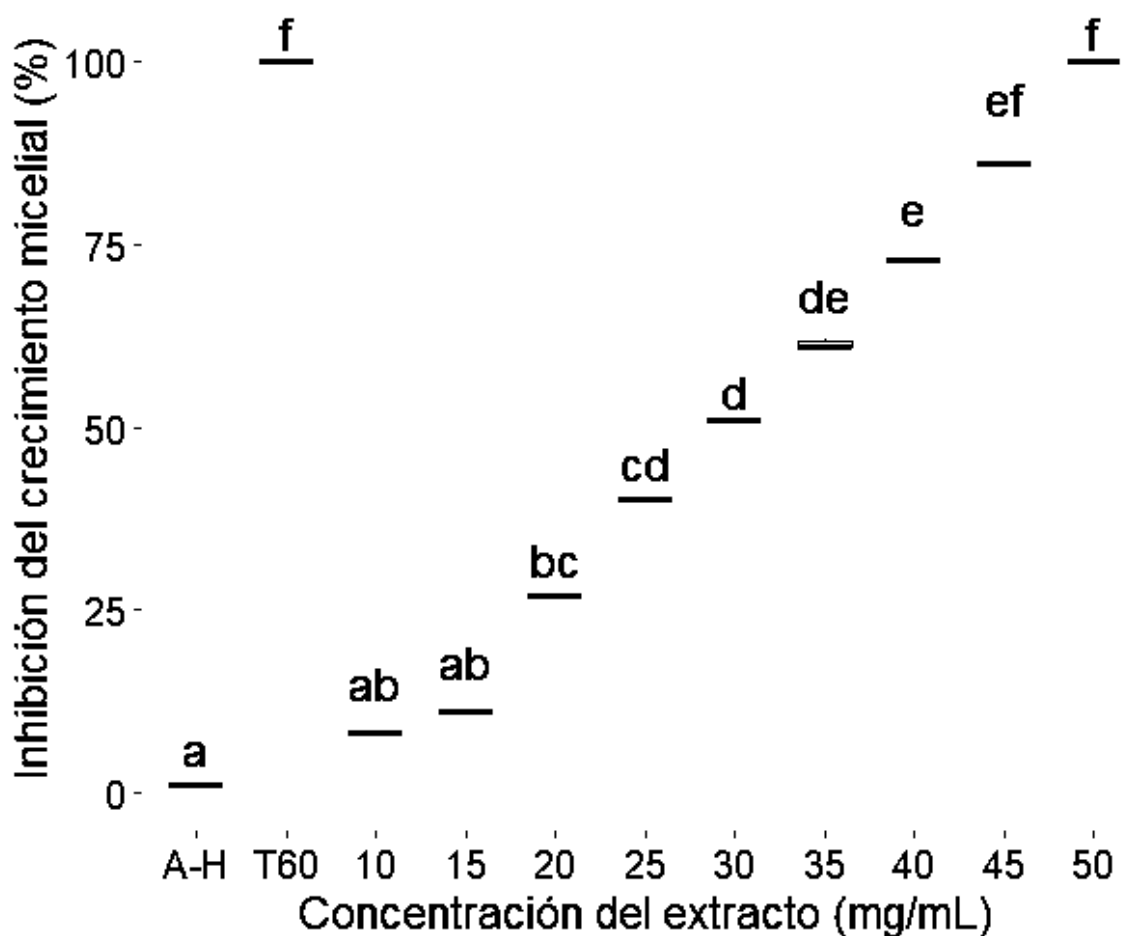


Fig. 11. Efecto del extracto hexánico de hojas de *Styrax ramirezii* sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*. A-H corresponde al control con solventes (alcohol y hexano), mientras que T60 corresponde al fungicida comercial Tecto® 60 (principio activo: Tiabendazol). Las concentraciones (10-50 mg/mL) corresponden al extracto evaluado. Los valores representan la media $\pm$ DE. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba de Dunn ($p < 0.05$).

7.2.1.2 Análisis dosis–respuesta y EC_{50}

La relación dosis–respuesta presentó un comportamiento sigmoideo (Fig. 12). Los datos se ajustaron a un modelo logístico de tres parámetros.

La concentración efectiva media (EC_{50}) estimada fue de 30.13 mg/mL.

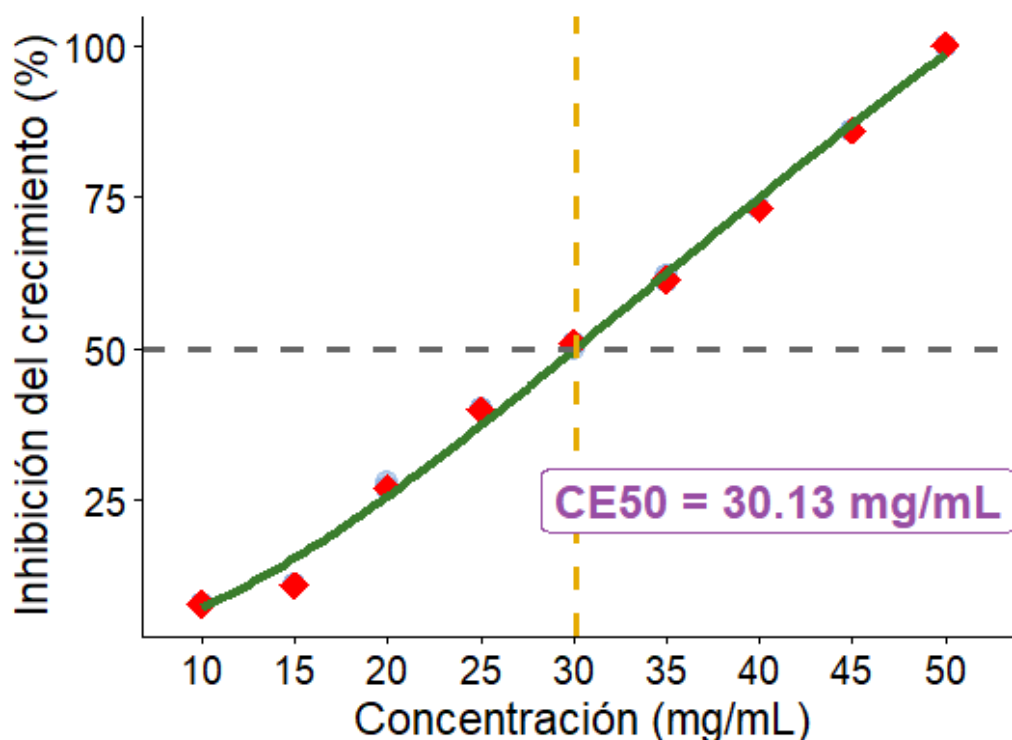


Fig. 12. Curva dosis–respuesta del extracto hexánico de hojas de *Styrax ramirezii* sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*. Los puntos representan la media de la inhibición observada y la línea continua corresponde al ajuste mediante un modelo logístico de tres parámetros (L3). La línea horizontal indica el 50 % de inhibición, a partir del cual se estimó la EC_{50} (30.13 mg/mL).

7.2.1.3 Daños morfológicos en micelio y conidios

El análisis microscópico evidenció alteraciones estructurales en el micelio de *Fusarium oxysporum* tratado con el extracto hexánico (Fig. 13).

Las hifas presentaron deformaciones, engrosamientos irregulares y pérdida de uniformidad estructural, efectos que fueron más notorios a mayores concentraciones. En los conidios se observó disminución en su cantidad, así como cambios en tamaño y morfología (Fig. 14).



Fig. 13. Daños morfológicos en el micelio de *Fusarium oxysporum* observados mediante microscopía óptica tras el tratamiento con extracto hexánico de hoja. (A) Control negativo (PDA), (B) control de solvente (hexano–alcohol), (C) control positivo (Tecto® 60). (D–L) Micelio tratado con extracto hexánico de hoja a concentraciones de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 y 50 mg/mL, donde se observan alteraciones estructurales dependientes de la concentración.

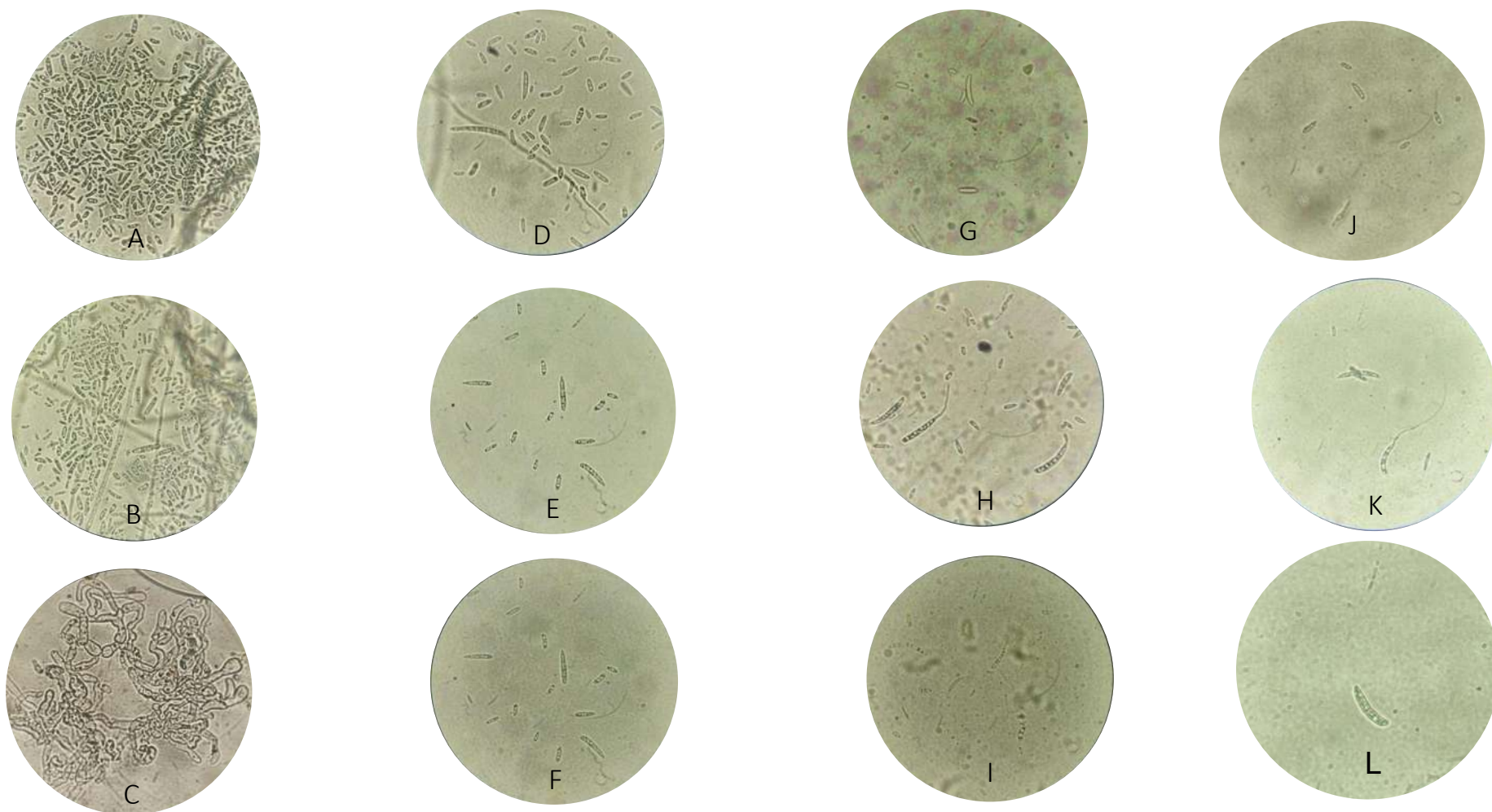


Fig. 14. Alteraciones en conidios de *Fusarium oxysporum* observadas por microscopía óptica (100×) tras el tratamiento con extracto hexánico de hoja. (A) Control negativo (PDA), (B) control de solvente (hexano–alcohol), (C) control positivo (Tecto® 60). (D–L) Tratamientos a 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 y 50 mg/mL, respectivamente, donde se observa disminución en la cantidad de conidios y conidios de mayor tamaño y deformados

7.2.2 Actividad antifúngica del extracto de acetato de etilo de hojas

7.2.2.1 Inhibición del crecimiento micelial

El extracto de acetato de etilo de hojas de *Styrax ramirezii* redujo el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* de manera dependiente de la concentración evaluada.

En las placas de cultivo se observó una disminución progresiva del crecimiento en comparación con el control negativo (PDA) y el control de solvente. A la concentración de 8 mg/mL se registró una inhibición del 100 % del crecimiento micelial, efecto comparable al observado en el control positivo (Tecto® 60) (Fig. 15).



Fig. 15. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de acetato de etilo mediante el método de medio envenenado frente a *Fusarium oxysporum*. (A) Control negativo (PDA), (B) control de solvente, (C) control positivo (Tecto® 60). (D–I) Tratamientos con extracto de acetato de etilo a concentraciones de 1, 2, 3, 4, 6 y 8 mg/mL, respectivamente, mostrando la inhibición del crecimiento micelial en función del aumento de la concentración.

El porcentaje de inhibición mostró diferencias significativas entre tratamientos (Fig. 16), evidenciando un incremento de la actividad antifúngica conforme aumentó la concentración.

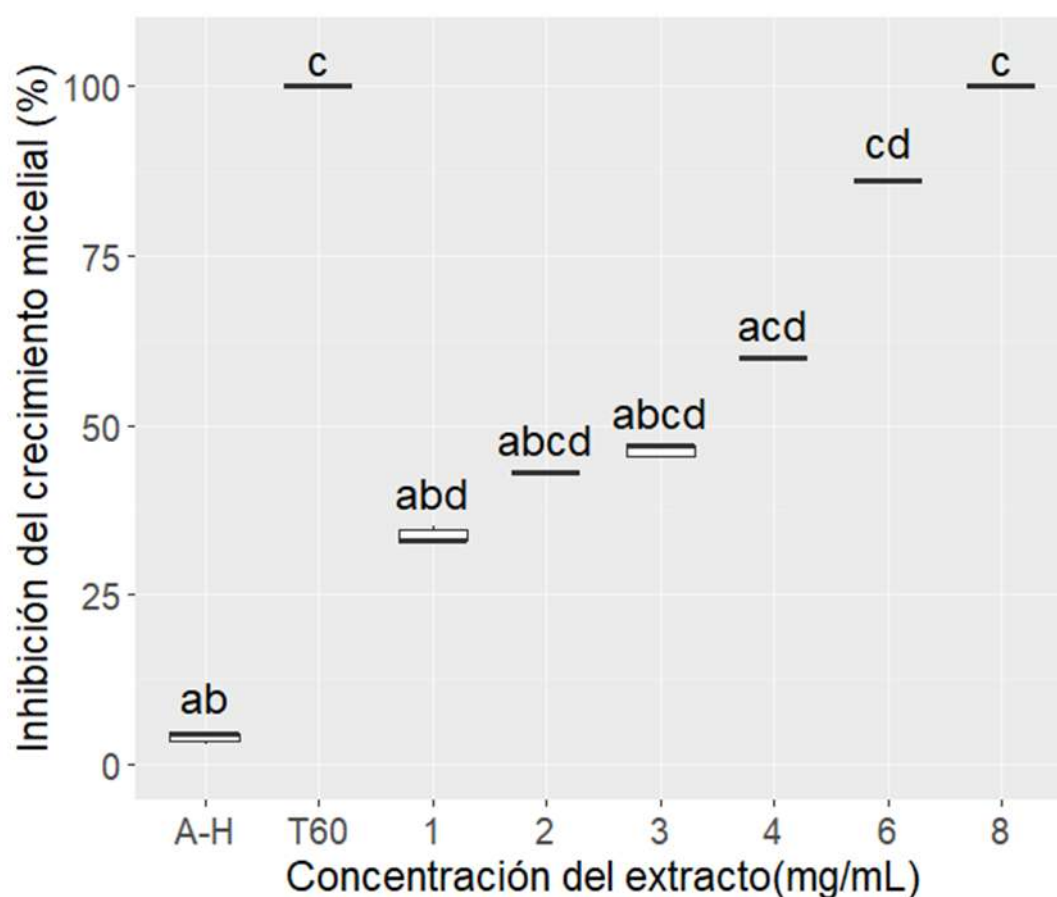


Fig. 16. Efecto del extracto de hojas de *Styrox ramirezii* obtenido con acetato de etilo sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*. A-H corresponde al control con solventes (alcohol y hexano), mientras que T60 corresponde al fungicida comercial Tecto® 60 (principio activo: Tiabendazol). Las concentraciones (1–8 mg/mL) corresponden al extracto evaluado. Los valores representan la media $\pm$ DE. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba de Dunn ($p < 0.05$).

7.2.2.2 Análisis dosis–respuesta y EC_{50}

La relación dosis–respuesta presentó un comportamiento sigmoideo (Fig. 17), indicando un incremento progresivo de la inhibición del crecimiento micelial conforme aumentó la concentración.

La concentración efectiva media (EC_{50}) estimada fue de 3.26 mg/mL.

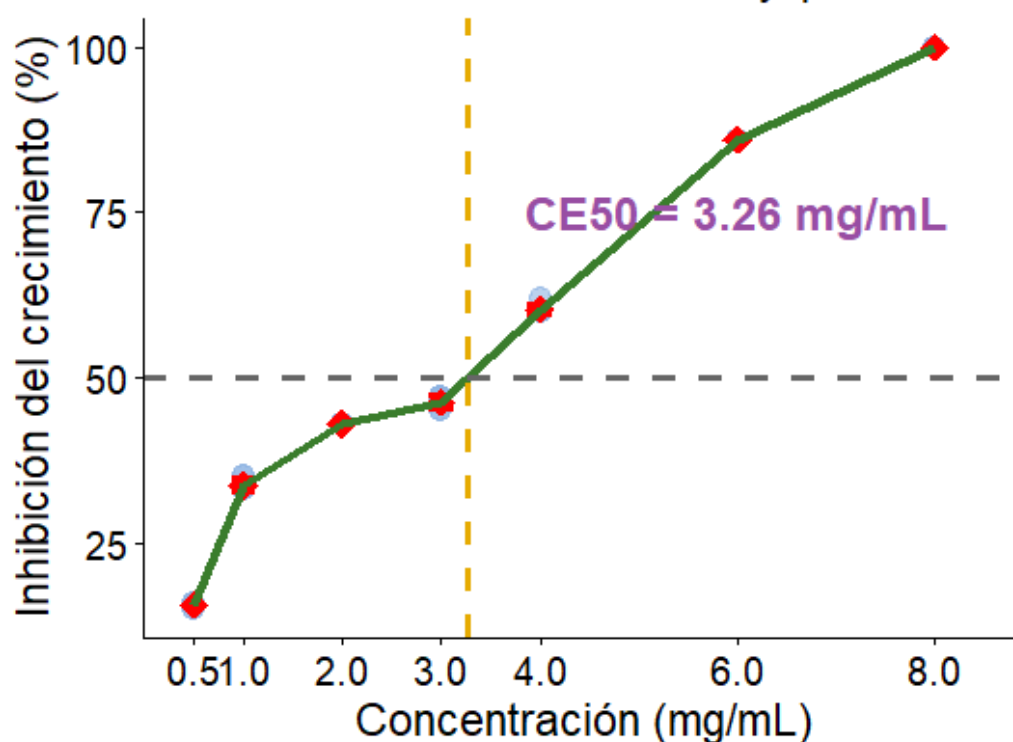


Fig. 17. Curva dosis–respuesta del extracto de hojas de *Styrax ramirezii* obtenido con acetato de etilo sobre la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* a los 6 días. La concentración efectiva media ($CE_{50} = 3.26$ mg/mL) fue estimada mediante interpolación lineal entre los puntos experimentales. La línea horizontal indica el 50 % de inhibición y la línea vertical la CE_{50} correspondiente.

7.2.2.3 Daños morfológicos en micelio y conidios

El análisis microscópico evidenció alteraciones estructurales en el micelio de *Fusarium oxysporum* tratado con el extracto de acetato de etilo (Fig. 18).

Las hifas presentaron deformación, adelgazamiento y colapso estructural conforme aumentó la concentración. En los conidios se observó disminución en su cantidad y cambios morfológicos evidentes (Fig. 19).



Fig. 18. Daños morfológicos en el micelio de *Fusarium oxysporum* observados mediante microscopía óptica tras el tratamiento con extracto de acetato de etilo. (A) Control negativo (PDA), (B) control de solvente, (C) control positivo (Tecto® 60). (D–J) Micelio tratado con extracto de acetato de etilo a concentraciones de 1, 2, 3, 4, 6 y 8 mg/mL, respectivamente, mostrando deformación, adelgazamiento y colapso de hifas conforme aumenta la concentración.



Fig. 19. Alteraciones en la producción y morfología de los conidios de *Fusarium oxysporum* observadas mediante microscopía óptica (100×) tras el tratamiento con extracto de acetato de etilo. (A) Control negativo (PDA), (B) control de solvente, (C) control positivo (Tecto® 60). (D–J) Tratamientos con extracto de acetato de etilo a concentraciones de 1, 2, 3, 4, 6 y 8 mg/mL, respectivamente, donde se observa disminución en la cantidad de conidios y conidios deformados conforme aumenta la concentración.

7.3 Perfil fitoquímico del extracto hexánico de hojas de *Styrax ramirezii*

7.3.1 Identificación de metabolitos mediante GC/MS

El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) permitió identificar 17 compuestos en el extracto hexánico de hojas de *Styrax ramirezii* (Fig. 20).

Los metabolitos identificados pertenecen principalmente a las clases de terpenos, ácidos grasos, fenoles, lactonas y n-alcanos, compuestos característicos de extractos obtenidos con solventes no polares.

Los compuestos más abundantes fueron: nonacosano, ácido hexadecanoico, ácido 9,12-octadecadienoico y escualeno (Cuadro 2).

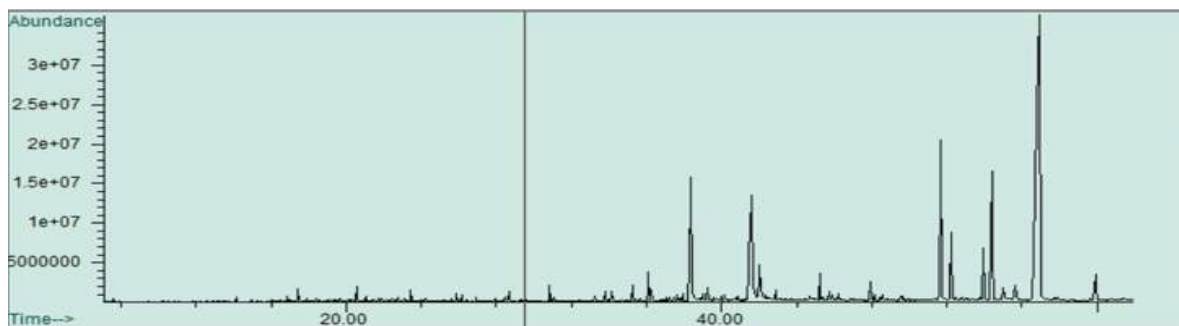


Fig. 20. Cromatograma del extracto hexánico de hojas de *Styrax ramirezii* obtenido mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). En total, se identificaron 17 compuestos (Cuadro 3), los cuales fueron clasificados de acuerdo con su naturaleza química y relevancia biológica reportada en la literatura.

Cuadro 2. Compuestos totales obtenidos a partir del análisis gc/ms del extracto de hexano de la hoja de *Styrax ramirezii*.

PK/ NO	COMPUESTOS TERPENOS	R.T. (MIN)	% TOTAL	% DE PROBABILIDAD	FÓRMULA QUÍMICA
	DITERPENOS				
37	H–Nafto[2,1-b]pirano, 3- eteni-dodecahidro- 3,4a,7,7,10a-pentametil-, [3R-(3α,4aβ,6aα,10aβ)]	40.015	0.125%	74	C ₂₀ H ₃₄ O
	SESQUITERPENOS OXIGENADO				
26	2-Pentadecanona, 6,10,14- trimetil	36.105	0.782	90	C ₁₈ H ₃₆ O
	TRITERPENOS				
62	Escualeno	54.378	6.415	48	C ₃₀ H ₅₀
	FENOLES ALQUILADOS				
19	Fenol, 2,4-bis(1,1-dimetiletil)-	28. 438	0.233	54	C ₁₄ H ₂₂ O
	FENÓL OXIGENADO				
19	2(4H)-Benzofuranona, 5,6,7,7a-tetrahidro-4,4,7a- trimetil-, (R)-	28.666	0.386	52	C ₁₁ H ₁₆ O ₂
	ÁCIDOS GRASOS				
33	Ácido hexadecanoico	38.377	8.855	85	C ₁₆ H ₃₂ O ₂

37	Éster glicerílico del ácido hexadecanoico	40.022	0.120	24	C35H68O5
24	Ácido tetradecanoico	34.162	0.451	79	C14H28O2
40	Éster metílico del ácido 9,12,15-octadecatrienoico	40.876	0.155	19	C19H32O2
41	Ácido 9,12-octadecadienoico (Z,Z)	41.572	5.156	23	C18H32O2
44	Éter trimetilsilílico del 1-monolinoleoglicerol	42.224	0.212	29	C27H54O4Si2
41	ácido esteárico	42.079	2.099	49	C18H36O2
	OTROS COMPUESTOS				
45	Eicoseno	42.899	0.341	48	C20H40
47	4,8,12,16-Tetrametilheptadecan-4-ólido	45.251	0.682	90	C21H40O2
57	Heptacosano	51.652	7.634	18	C27H56
61	Octacosano	53.930	2.464	27	C28H58
65	Nonacosano	56.725	41.090	16	C29H60

7.4 Perfil fitoquímico del extracto de acetato de etilo de hojas de *Styrax ramirezii*

7.4.1 Identificación de metabolitos mediante GC/MS

El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) del extracto de acetato de etilo de hojas de *Styrax ramirezii* permitió identificar 21 compuestos (Fig. 21).

Los metabolitos detectados pertenecen principalmente a las clases de terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos), compuestos fenólicos, ácidos grasos y compuestos nitrogenados, lo que refleja la capacidad del acetato de etilo para extraer metabolitos de polaridad intermedia.

Entre los compuestos con mayor abundancia relativa se encontraron ácido n-hexadecanoico, fitol, 2-pentadecanona y diversos fenoles sustituidos (Cuadro 3).

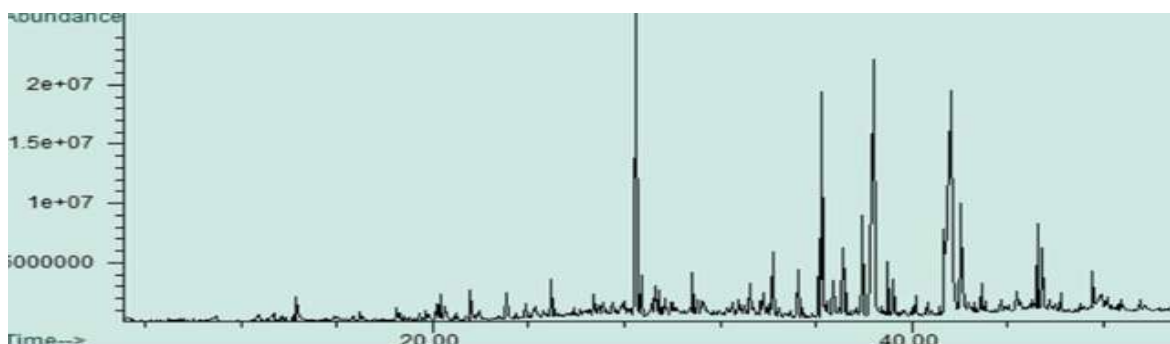


Fig. 21. Cromatograma del extracto de acetato de etilo de hojas de *Styrax ramirezii* obtenido mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) total, se identificaron 24 compuestos (Cuadro 4), los cuales fueron clasificados de acuerdo con su naturaleza química y relevancia biológica reportada en la literatura.

Cuadro 3. Compuestos totales obtenidos a partir del análisis gc/ms del extracto de acetato de etilo de la hoja de *Styrax ramirezii*.

PK/ NO	COMPUESTOS	R.T. (MIN)	% ÁREA	% DE PROBABILIDAD	FÓRMULA QUÍMICA
	TERPENOS				
	MONOTERPENO OXIGENADO				
214	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (E)-	21.588	0.484	36	C ₁₀ H ₁₈ O
29	Nonanal	16.880	0.033	62	C ₉ H ₁₈ O
194	Ácido octadecanoico	42.079	1.992	77	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
	DITERPENO				
190	Fitol	41.369	4.544	71	C ₂₀ H ₄₀ O
	SESQUITERPENO OXIGENADO				
154	2-Pentadecanona, 6,10,14-trimetil-	36.116	0.713	91	C ₁₈ H ₃₆ O
	TRITERPENO				

261	Escualeno	54.378	1.441	38	C30H50
	FENOLES				
42	Salicilato de metilo	19.716	0.115	43	C8H8O3
56	2-Metoxi-4-vinilfenol	23.072	0.679	34	C9H10O2
45	2,3-Dihidrobenzofurano	20.313	0.350	37	C8H8O
135	4-((1E)-3-hidroxi-1-propen-1-yl)-2-metoxifenol	33.204	0.764	76	C10H12O3
99	Fenol, 2,2'-metilenbis[6-(1,1-dimetiletil)-4-etil-]	28.480	3.791	61	C25H36O2
67	Vanillin	24.965	0.642	33	C8H8O3
	COMPUESTOS NITROGENADOS				
46	1H-Pirrol-2,5-diona, 3-etil-4-metil-	20.498	0.251	26	C7H9NO2
	ACIDOS GRASOS				
11	Ácido hexanoico	12.748	0.226	57	C6H12O2
13	Ácido 3-hexenoico (E)	13.384	0.321	59	C6H10O2
30	Ácido ciclopropanoacético, 2-hexil-	16.973	0.145	79	C11H20O2
142	Ácido tetradecanoico	34.204	1.196	60	C14H28O2
166	Ácido n-hexadecanoico	38.432	8.591	80	C16H32O2
194	Ácido octadecanoico	42.076	1.992	75	C18H36O2
	OTROS COMPUESTOS				

206	1-Heptatriacontanol	44.383	0.511	37	C37H76O
8	Ácido 2-metil-2-butenico	10.977	3.791	69	C5H8O2
160	7,9-Di-terc-butil-1-oxaspiro [4,5]deca-6,9-dien-2,8-diona	37.102	0.781	95.5	C17H24O3
246	Etil iso-allocholato	51.262	0.689	46.8	C26H44O5
212	4,8,12,16-Tetrametilheptadecan-4- ólido	45	0.989	87	C21H40O2

7.5 Comparación de compuestos comunes entre extractos

Con el fin de identificar coincidencias en la composición química de ambos extractos, se realizó una comparación de los metabolitos detectados mediante GC/MS en el extracto hexánico y en el extracto de acetato de etilo de hojas de *Styrax ramirezii*. El Cuadro 4 presenta los compuestos comunes identificados en ambos perfiles cromatográficos.

Cuadro 4. Comparación de compuestos comunes en extractos de hojas de *Styrax ramirezii*.

	Hexánico	Hexánico	Acetato de etilo	Acetato de etilo
Compuesto	Porcentaje en el extracto	abundancia en mg/100 g de material vegetal	Porcentaje en el extracto	abundancia en mg/100 g de material vegetal
Escualeno	6.415	64.15 mg	1.441	100.87 mg
Ácido hexadecanoico (ácido palmítico)	8.855	88.55	8.591	601.37
Ácido octadecanoico (ácido esteárico)	5.156	51.56	1.992	139.44 mg
Ácido tetradecanoico (mirístico)	0.451	4.51 mg	0.642	44.94 mg

2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	0 .78	7.82 mg	0 .713	49.91 mg
4,8,12,16-Tetrametilheptadecan-4-ólido	0.682	6.82 mg	0.989	69.23 mg

VIII. DISCUSIÓN GENERAL

8.1 Rendimiento y características de los extractos

Las diferencias visuales observadas entre los extractos obtenidos con hexano y acetato de etilo podrían estar asociadas con la distinta polaridad de los solventes utilizados. El hexano, al ser un solvente no polar, favorece la extracción de compuestos lipofílicos como ácidos grasos y algunos terpenos, mientras que el acetato de etilo, de polaridad intermedia, puede extraer compuestos fenólicos y terpenoides de mayor polaridad.

La mayor intensidad de color y consistencia observadas en el extracto de acetato de etilo podrían estar relacionadas con la presencia de metabolitos secundarios con estructuras más complejas y grupos funcionales oxigenados.

8.1.1 Influencia del solvente en la extracción

Las diferencias observadas entre los extractos podrían estar relacionadas con la distinta polaridad de los solventes empleados, lo cual influye en la afinidad y solubilidad de los metabolitos presentes en las hojas de *Styrax ramirezii*.

8.1.2 Influencia del solvente en el rendimiento de extracción

El mayor rendimiento obtenido con acetato de etilo en comparación con hexano podría estar relacionado con la polaridad intermedia de este solvente, la cual favorece la extracción de metabolitos secundarios de naturaleza semipolar. Diversos estudios han reportado que solventes de polaridad intermedia presentan mayor eficiencia en la recuperación de compuestos bioactivos (Do et al., 2014; Altemimi et al., 2017).

Resultados similares han sido documentados en otras especies vegetales. Por ejemplo, Jiménez-Arellanes et al. (2011) reportaron un rendimiento de 1.6 % en extractos hexánicos de *Aristolochia taliscana*, mientras que Taborda et al. (2019) obtuvieron rendimientos de 1.9 % y 2.0 % en fracciones hexánicas y de acetato de etilo a partir de semillas de quinoa.

La diferencia observada en los rendimientos sugiere que los metabolitos mayoritariamente presentes en las hojas de *Styrax ramirezii* podrían presentar mayor afinidad por solventes semipolares. Entre estos compuestos podrían

encontrarse flavonoides, cumarinas o terpenoides oxigenados, metabolitos previamente reportados en especies del género *Styrax* (Ibrahim et al., 2018).

8.2 Discusión de la actividad antifúngica del extracto hexánico

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que el extracto hexánico de hojas de *Styrax ramirezii* presenta una actividad antifúngica dosis–dependiente frente a *Fusarium oxysporum*, evidenciada tanto por la inhibición del crecimiento micelial como por la presencia de daños morfológicos severos en hifas y conidios. La reducción progresiva del crecimiento conforme aumentó la concentración del extracto indica una relación directa entre la cantidad de compuestos bioactivos presentes y la magnitud del efecto antifúngico observado, patrón que ha sido ampliamente documentado en estudios in vitro con extractos vegetales.

La inhibición total (100 %) del crecimiento micelial alcanzada a una concentración de 50 mg/mL adquiere especial relevancia considerando que se trata de un extracto crudo no fraccionado. Este comportamiento es comparable con lo reportado por Acedo-Zegarra et al. (2020), quienes evaluaron extractos de *Syzygium aromaticum* frente a *F. oxysporum* y observaron que únicamente la concentración más alta del extracto (5 %, equivalente a aproximadamente 50 mg/mL) logró una inhibición completa del crecimiento micelial, mientras que concentraciones menores produjeron efectos parciales. En este sentido, los resultados del presente estudio se encuentran dentro del mismo rango de respuesta biológica, confirmando que *F. oxysporum* requiere concentraciones relativamente elevadas de extractos vegetales para lograr un control efectivo de su crecimiento micelial en condiciones in vitro.

El análisis dosis–respuesta permitió estimar una concentración efectiva media (EC_{50}) de 30.13 mg/mL para el extracto hexánico de *S. ramirezii*, lo que indica una actividad antifúngica moderada. No obstante, al comparar este valor con reportes previos, se observa que el desempeño del extracto evaluado es superior al de otras especies vegetales estudiadas bajo condiciones experimentales similares. Hernández-Soto et al. (2025) reportaron una EC_{50} de 34.274 mg/mL para extractos hexánicos de *Argemone mexicana* frente a *F. oxysporum*, lo que sugiere que el extracto de *S. ramirezii* presenta una mayor potencia biológica, al requerir una

menor concentración para inhibir el 50 % del crecimiento micelial. Esta comparación resulta particularmente relevante dado que ambos estudios evaluaron extractos crudos obtenidos con solventes no polares, lo que permite una interpretación directa desde un enfoque aplicado de control biológico.

La actividad antifúngica observada puede estar estrechamente relacionada con la naturaleza química del extracto hexánico. El análisis GC/MS reveló la presencia predominante de compuestos lipofílicos, como ácidos grasos (ácido palmítico, esteárico y linoleico), escualeno, cetonas alifáticas y lactonas macrocíclicas, varios de los cuales han sido previamente asociados con efectos antifúngicos. Estos compuestos pueden ejercer su acción mediante la interacción con la membrana celular del hongo, alterando su permeabilidad, interfiriendo en la biosíntesis de ergosterol y promoviendo la fuga de componentes citoplasmáticos, así como la generación de estrés oxidativo, mecanismos descritos para extractos obtenidos con solventes no polares (Burt, 2004; Kaur et al., 2020).

Los daños morfológicos observados mediante microscopía óptica refuerzan esta interpretación, ya que las hifas tratadas con el extracto hexánico presentaron deformaciones, engrosamientos irregulares y desorganización estructural, mientras que los conidios mostraron disminución en su número, deformaciones y alteraciones en el tamaño. Este tipo de afectaciones estructurales ha sido reportado previamente en *Fusarium* spp. tratados con extractos vegetales, donde se ha asociado con una pérdida de viabilidad y capacidad reproductiva del patógeno (Cruz-Cerino et al., 2020). La severidad de los daños observados en el presente estudio sugiere que el extracto hexánico no solo inhibe el crecimiento micelial, sino que compromete procesos celulares clave para la supervivencia y diseminación del hongo.

En conjunto, los resultados obtenidos confirman que el extracto hexánico de hojas de *Styrax ramirezii* posee un potencial antifúngico relevante frente a *Fusarium oxysporum*, caracterizado por una inhibición dosis-dependiente, una EC_{50} competitiva y alteraciones morfológicas severas. Estos hallazgos respaldan la importancia de evaluar rangos amplios de concentración al estudiar extractos vegetales y posicionan a *S. ramirezii* como una fuente prometedora de compuestos

naturales con posible aplicación como alternativa sostenible a los fungicidas sintéticos en el manejo de hongos fitopatógenos.

8.3 Discusión de la actividad antifúngica del extracto de acetato de etilo

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que el extracto de acetato de etilo de hojas de *Styrax ramirezii* presenta una actividad antifúngica elevada frente a *Fusarium oxysporum*, caracterizada por una inhibición claramente dependiente de la dosis, inhibiciones completas del crecimiento micelial a concentraciones relativamente bajas y daños morfológicos severos tanto en micelio como en conidios. En comparación con el extracto hexánico, el extracto de acetato de etilo mostró una mayor eficacia biológica, lo que sugiere que los metabolitos responsables de la actividad antifúngica se concentran preferentemente en fracciones de polaridad intermedia.

La inhibición total (100 %) del crecimiento micelial observada a una concentración de 8 mg/mL resulta particularmente relevante, ya que evidencia una alta potencia antifúngica aun tratándose de un extracto crudo no fraccionado. Además, la ausencia de crecimiento fúngico tras la transferencia de discos miceliales tratados a medio PDA fresco sugiere un comportamiento fungicida a esta concentración, lo cual refuerza el potencial del extracto para un control efectivo del patógeno. Este nivel de eficacia adquiere mayor importancia al compararse con estudios previos, como el de Chacón et al. (2021), quienes reportaron inhibiciones del 40–60 % utilizando extractos de *Piper auritum* a concentraciones cercanas a 8.4 mg/mL, y el de Miramontes et al. (2024), quienes lograron una inhibición completa con extractos de *Lippia graveolens* únicamente a concentraciones de 16 mg/mL, el doble de la requerida en el presente estudio. Estas comparaciones confirman que el extracto de *S. ramirezii* presenta una eficacia antifúngica superior a concentraciones equivalentes o incluso menores.

El análisis dosis–respuesta corroboró este comportamiento, al mostrar una curva sigmoidea típica y una concentración efectiva media (EC_{50}) de 3.26 mg/mL, valor considerablemente bajo en comparación con otros extractos vegetales evaluados frente a *F. oxysporum*. Chacón et al. (2021) reportaron una EC_{50} aproximada de 6 mg/mL para extractos de *Piper auritum*, mientras que Carmona-Hernández et al. (2018) informaron una EC_{50} de 26.32 mg/mL para extractos de *Piper lapathifolium*.

Estas diferencias indican que el extracto de acetato de etilo de *S. ramirezii* presenta una mayor potencia biológica, al requerir concentraciones significativamente menores para inhibir el 50 % del crecimiento micelial del patógeno.

La elevada actividad antifúngica observada puede atribuirse a la composición química del extracto de acetato de etilo, el cual concentra metabolitos de polaridad intermedia con reconocida actividad biológica. Entre estos compuestos destacan terpenos oxigenados, compuestos fenólicos, aldehídos aromáticos y derivados benzofuránicos, así como fitol, metil salicilato, vanillina, escualeno y ácidos grasos de cadena larga, todos ellos previamente asociados con efectos fungistáticos o fungicidas. La presencia simultánea de estos metabolitos sugiere un posible efecto sinérgico, en el cual la acción combinada de distintos mecanismos contribuye a una mayor eficacia antifúngica a concentraciones más bajas.

Los daños morfológicos observados mediante microscopía óptica refuerzan esta interpretación. El micelio tratado con el extracto de acetato de etilo presentó deformaciones severas, adelgazamiento, colapso y pérdida de continuidad estructural, mientras que los conidios mostraron una disminución significativa en su número y alteraciones morfológicas evidentes. Este tipo de afectaciones estructurales sugiere una interferencia directa en la integridad celular, así como en los procesos reproductivos del hongo, comprometiendo su viabilidad y capacidad de diseminación. Resultados similares han sido reportados por Daradka et al. (2021) y Teixeira et al. (2023), quienes documentaron que extractos vegetales ricos en metabolitos semipolares ejercen su efecto antifúngico mediante la alteración de múltiples blancos celulares, incluyendo la membrana plasmática y la pared celular.

Este modo de acción multisitio resulta particularmente relevante desde un enfoque aplicado, ya que podría reducir la probabilidad de desarrollo de resistencia fúngica, a diferencia de fungicidas sintéticos con un único sitio de acción. En este contexto, el extracto de acetato de etilo de *Styrax ramirezii* se posiciona como una alternativa biorracional prometedora para el manejo de *Fusarium oxysporum*, especialmente en escenarios donde el uso intensivo de fungicidas convencionales representa riesgos para la salud humana y el medio ambiente.

8.4 Metabolitos del extracto hexánico asociados con actividad antimicrobiana reportada

A partir del perfil químico obtenido, se seleccionaron aquellos compuestos que destacaron por su abundancia relativa y/o por haber sido previamente asociados con actividades antimicrobianas, particularmente antifúngicas, con el fin de establecer una relación entre la composición química del extracto y la actividad observada frente a *Fusarium oxysporum*.

- **Escualeno (triterpeno)**

El escualeno fue uno de los metabolitos más abundantes identificados en los extractos de hexano y de acetato de etilo ($\approx 41\%$), lo que lo posiciona como un componente clave dentro del perfil fitoquímico de *Styrax ramirezii*. Este triterpeno es un intermediario esencial en la biosíntesis de esteroides, particularmente del ergosterol en hongos, un componente fundamental de la membrana plasmática fúngica. Desde el punto de vista biológico, la acumulación de escualeno o la interferencia en su conversión a ergosterol provoca disfunción de la membrana celular, alterando su integridad y permeabilidad. Este mecanismo es consistente con la acción de antifúngicos convencionales como los azoles y la terbinafina, lo que sugiere que la alta abundancia de escualeno podría estar directamente relacionada con la inhibición del crecimiento micelial observada en *Fusarium oxysporum* (Micera et al., 2020; Bhat et al., 2023).

- **Ácidos grasos de cadena larga (ácido palmítico, esteárico, linoleico y mirístico)**

En los extractos de *S. ramirezii* se identificaron diversos ácidos grasos saturados y poliinsaturados, entre ellos ácido hexadecanoico (palmítico), ácido octadecanoico (esteárico), ácido 9,12-octadecadienoico (linoleico) y ácido tetradecanoico (mirístico). Estos compuestos son característicos de extractos lipofílicos y han sido ampliamente asociados con actividad antimicrobiana en plantas.

Los ácidos grasos ejercen su efecto principalmente mediante la alteración de la fluidez y estabilidad de la membrana fúngica, la interferencia en la biosíntesis de esteroides, la inducción de estrés oxidativo y la inhibición de la germinación de conidios y el desarrollo de hifas. En conjunto, estos mecanismos conducen a la

pérdida de integridad celular y a la muerte del patógeno, contribuyendo de manera directa al efecto antifúngico observado frente a *F. oxysporum* (Prasath et al., 2019; Prasath et al., 2020; Guimarães et al., 2022).

- **2-Pentadecanona (6,10,14-trimetil-) (cetona alifática)**

La 2-pentadecanona (6,10,14-trimetil-) fue detectada en el extracto hexánico como uno de los compuestos volátiles de interés. Esta cetona lipofílica ha sido previamente reportada en aceites esenciales y extractos vegetales con actividad antimicrobiana, particularmente frente a bacterias y hongos.

Su mecanismo de acción se ha asociado con la capacidad de interactuar con biomembranas y afectar procesos metabólicos esenciales, incluyendo la respiración celular y la integridad estructural. La presencia de esta cetona en *S. ramirezii* sugiere una contribución adicional a la actividad antifúngica, especialmente como parte de una mezcla compleja de metabolitos con acción sinérgica (Qudah et al., 2013; Zhao et al., 2018).

- **4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide (lactona macrocíclica)**

En el extracto hexánico se identificó la lactona 4,8,12,16-tetrametilheptadecan-4-ólido, un compuesto alifático macrocíclico cuya presencia resulta particularmente relevante. Las lactonas de este tipo han sido reportadas en aceites esenciales con actividad antimicrobiana significativa.

Diversos estudios indican que las lactonas macrocíclicas pueden desestabilizar membranas lipídicas, alterar el transporte iónico e interferir en rutas metabólicas esenciales, provocando la inhibición del crecimiento microbiano. Cabe destacar que no existen reportes previos de este compuesto en especies del género *Styrax*, lo que sugiere un posible hallazgo novedoso con implicaciones en la actividad antifúngica observada contra *F. oxysporum* (Chen et al., 2011; Liu et al., 2020).

- **Fenol, 2,4-bis(1,1-dimetiletil)- (fenol alquilado)**

El fenol 2,4-bis(1,1-dimetiletil)- fue identificado tanto en el extracto hexánico como en el de acetato de etilo. Este compuesto pertenece al grupo de los fenoles alquilados, conocidos por su amplia actividad antimicrobiana.

Su modo de acción incluye la alteración de la integridad de la membrana celular, la desnaturalización de proteínas y la interferencia en la síntesis de ATP mitocondrial, afectando el metabolismo energético del hongo. Estos efectos explican su contribución a la inhibición del crecimiento micelial y refuerzan su papel dentro del perfil bioactivo de *S. ramirezii* (Devi et al., 2021).

- **n-Alcanos de cadena larga (heptacosano, octacosano y nonacosano)**

En el perfil GC-MS del extracto hexánico se detectaron los n-alcanos heptacosano, octacosano y nonacosano, compuestos comunes en extractos lipofílicos de plantas con actividad biológica. Aunque estos hidrocarburos no suelen actuar como antimicrobianos directos, su presencia es recurrente en mezclas bioactivas.

Estos alcanos pueden favorecer interacciones hidrofóbicas con las membranas celulares y potenciar la acción de otros metabolitos antifúngicos presentes en el extracto, contribuyendo a un efecto sinérgico global. De este modo, su detección en *S. ramirezii* refuerza la idea de que la actividad antifúngica observada es el resultado de la acción conjunta de múltiples compuestos (Asong et al., 2019; Narangerel et al., 2021).

- **Derivado H-Nafto[2,1-b]pirano (compuesto aromático heterocíclico)**

En el extracto hexánico se identificó un derivado del núcleo H-nafto[2,1-b]pirano, una estructura poco reportada en extractos vegetales. Hasta el momento, no existen estudios que describan esta molécula específica como metabolito natural ni que evalúen directamente su actividad antifúngica.

No obstante, derivados sintéticos con el mismo esqueleto naftopiránico han mostrado actividad antimicrobiana significativa frente a bacterias y hongos, lo que sugiere que este tipo de arquitectura molecular posee propiedades bioactivas intrínsecas. Su presencia en *S. ramirezii* podría representar un metabolito poco común y potencialmente relevante en la actividad antifúngica observada contra *F. oxysporum* (Bedair et al., 2002).

En conjunto, el perfil fitoquímico del extracto hexánico de hojas de *Styrax ramirezii* se caracteriza por una alta proporción de metabolitos lipofílicos, incluyendo triterpenos, ácidos grasos, cetonas, lactonas, fenoles y alcanos de cadena larga,

los cuales han sido asociados con mecanismos antifúngicos relacionados principalmente con la alteración de la integridad de la membrana celular, la interferencia en la biosíntesis de esteroides y la disrupción metabólica. La acción combinada y potencialmente sinérgica de estos compuestos proporciona una base química que explica la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* observada en los bioensayos, respaldando el potencial antifúngico del extracto hexánico.

8.5 Metabolitos del extracto de acetato de etilo asociados con actividad antimicrobiana reportada

A partir del análisis por GC-MS del extracto de hoja de *Styrax ramirezii* disuelto en acetato de etilo, se identificaron diversos metabolitos secundarios con posibles implicaciones biológicas. La selección de los compuestos descritos a continuación se basó tanto en su abundancia relativa dentro del perfil químico obtenido como en la existencia de antecedentes científicos que reportan actividades antimicrobianas o antifúngicas. Esta información permite explorar el potencial bioactivo del extracto y su relevancia frente a patógenos como *Fusarium oxysporum*.

- **Fitol**

Entre los terpenoides, destaca el fitol, un alcohol diterpénico capaz de inducir estrés oxidativo, promover la peroxidación lipídica y causar daño directo en la membrana celular fúngica, lo que reduce la viabilidad tanto de hifas como de esporas (Lee et al., 2016).

- **Geraniol**

De manera complementaria, el geraniol, aunque presente en baja proporción, posee una acción multifocal que incluye la alteración de la membrana plasmática, la inhibición de la biosíntesis de ergosterol y la fuga de material intracelular, comprometiendo procesos esenciales como la germinación y el crecimiento micelial (Leite et al., 2015).

- **Escualeno**

Asimismo, la detección de escualeno, precursor clave en la vía de biosíntesis de esteroides, resulta relevante, ya que la interferencia en esta ruta metabólica provoca disfunciones estructurales en la membrana fúngica, un blanco clásico de antifúngicos de uso comercial (Micera et al., 2020).

- **El metil salicilato y la vanillina**

Por otro lado, el extracto contiene compuestos aromáticos, heterocíclicos y volátiles que refuerzan su potencial bioactivo. El metil salicilato y la vanillina, junto con otros metoxifenoles, afectan la permeabilidad de la membrana y el transporte iónico, además de ejercer efectos antifúngicos y antivirulencia, lo que contribuye a la inhibición del crecimiento micelial (Qianqia et al., 2024; Ríos-López et al., 2024).

- **2,3-dihidrobenzofurano**

Los derivados benzofuránicos, como el 2,3-dihidrobenzofurano, son reconocidos por su capacidad para interferir en rutas metabólicas y dañar proteínas y membranas esenciales (Koca et al., 2005).

- **2-pentadecanona (6,10,14-trimetil-) y nonanal**

Finalmente, compuestos volátiles como la 2-pentadecanona (6,10,14-trimetil-) y el nonanal pueden interactuar con biomembranas, alterar procesos respiratorios y generar estrés oxidativo, potenciando el daño celular fúngico (Zhao et al., 2018; Li et al., 2023).

- **4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide (lactona macrocíclica)**

Se identificó la lactona 4,8,12,16-tetrametilheptadecan-4-ólido, un compuesto alifático macrocíclico cuya presencia resulta particularmente relevante. Las lactonas de este tipo han sido reportadas en aceites esenciales con actividad antimicrobiana significativa.

Diversos estudios indican que las lactonas macrocíclicas pueden desestabilizar membranas lipídicas, alterar el transporte iónico e interferir en rutas metabólicas esenciales, provocando la inhibición del crecimiento microbiano. Cabe destacar que no existen reportes previos de este compuesto en especies del género *Styrax*, lo que sugiere un posible hallazgo novedoso con implicaciones en la actividad antifúngica observada contra *F. oxysporum* (Chen et al., 2011; Liu et al., 2020).

En síntesis, el perfil fitoquímico del extracto de acetato de etilo de hojas de *Styrax ramirezii* revela la presencia de metabolitos con mecanismos de acción complementarios, principalmente asociados a la alteración de membranas, la interferencia en la biosíntesis de esteroides y la disrupción metabólica celular. Esta composición química proporciona una base que explica la actividad antifúngica observada frente a *Fusarium oxysporum* y respalda el potencial del extracto como una alternativa natural para el manejo de patógenos fitopatógenos. En conjunto, los resultados sugieren que el extracto de acetato de etilo presenta mayor potencia antifúngica en comparación con el extracto de hexano, lo cual podría atribuirse a la mayor presencia de compuestos fenólicos y terpenoides con reconocida actividad antimicrobiana.

8.7 Comparación de perfiles fitoquímicos entre extractos

Los compuestos identificados de manera común en los extractos hexánico y de acetato de etilo obtenidos a partir de hojas de *Styrax ramirezii* incluyeron escualeno, ácidos grasos saturados (ácido palmítico, esteárico y mirístico) y la cetona alifática 2-pentadecanona, 6,10,14-trimetil-. El análisis por GC/MS reveló diferencias en la abundancia relativa de estos metabolitos entre ambos extractos, observándose en general porcentajes más elevados en el extracto hexánico.

Sin embargo, al considerar el rendimiento de extracción, se evidenció una tendencia distinta. El extracto hexánico presentó un rendimiento bajo (1.2%), mientras que el extracto de acetato de etilo alcanzó un rendimiento considerablemente mayor (7.5%). Al integrar estos rendimientos en el cálculo de la abundancia expresada como mg por 100 g de material vegetal seco, se observó que la cantidad absoluta de los compuestos fue superior en el extracto de acetato de etilo.

Por ejemplo, aunque el escualeno y los ácidos grasos mostraron mayores porcentajes relativos en el extracto hexánico, su recuperación total desde el material vegetal fue mayor en el extracto de acetato de etilo. Este comportamiento sugiere que el acetato de etilo, debido a su polaridad intermedia, permite una extracción más eficiente de metabolitos lipofílicos y semipolares, favoreciendo una mayor recuperación global de compuestos bioactivos.

Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de interpretar los datos de GC/MS de manera integrada con el rendimiento de extracción, ya que una mayor abundancia relativa no necesariamente implica una mayor cantidad real del compuesto presente en la planta. En este sentido, el extracto de acetato de etilo representa una fracción más rica en términos absolutos, lo que podría explicar su mayor potencial biológico observado en los bioensayos.

IX. PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que los extractos de hojas de *Styrax ramirezii* presentan actividad antifúngica frente a *Fusarium oxysporum*, así como un perfil fitoquímico caracterizado por la presencia de compuestos con potencial actividad biológica, tales como ácidos grasos (ácido palmítico, ácido linolénico), escualeno, compuestos fenólicos, benzofuranos y otros metabolitos secundarios identificados mediante GC/MS.

Sin embargo, aunque se evidenció inhibición del crecimiento micelial mediante el método de medio envenenado, aún quedan diversas interrogantes que abren nuevas líneas de investigación.

Nuevas preguntas de investigación

- ¿Cuál de los compuestos identificados son responsables directos de la actividad antifúngica observada?
- ¿Existe un efecto sinérgico entre los metabolitos presentes en el extracto crudo?
- ¿Cuál es el mecanismo de acción de los compuestos activos sobre la estructura celular de *Fusarium oxysporum*?
- ¿La actividad antifúngica se mantiene en condiciones in vivo o en ensayos en plantas?
- ¿Existen variaciones estacionales en el perfil fitoquímico de *Styrax ramirezii* que modifiquen su bioactividad?

Recomendaciones para trabajos posteriores

1. Realizar fraccionamiento bio-dirigido del extracto para aislar y evaluar compuestos individuales.
2. Analizar posibles alteraciones morfológicas en el micelio mediante microscopía óptica o electrónica.
3. Evaluar la actividad antifúngica en sistemas in vivo o en ensayos de campo.
4. Estudiar posibles efectos fitotóxicos para valorar su aplicación agrícola.

X. CONCLUSIONES

1. Se estableció un protocolo eficiente y reproducible para la obtención de extractos hexánico y de acetato de etilo a partir de hojas de *Styrax ramirezii*, adecuados para su caracterización fitoquímica y evaluación biológica.
2. Los extractos evaluados presentaron actividad antifúngica frente a *Fusarium oxysporum*, confirmando su efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial mediante el método de medio envenenado.
3. El extracto de acetato de etilo mostró mayor potencia antifúngica que el extracto hexánico, alcanzando inhibición total a menor concentración (8 mg/mL) y un valor de EC_{50} de 3.2 mg/mL, en comparación con el extracto hexánico (50 mg/mL; EC_{50} = 28 mg/mL).
4. El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) permitió identificar metabolitos secundarios pertenecientes a ácidos grasos y derivados, terpenos, compuestos fenólicos, benzofuranos y lactonas, asociados con actividad antifúngica.
5. Se identificó la lactona 4,8,12,16-tetrametilheptadecan-4-ólido, compuesto no reportado previamente para el género *Styrax*, lo que aporta información novedosa sobre el perfil químico de *Styrax ramirezii*.
6. La polaridad del solvente influyó significativamente en la extracción de compuestos bioactivos y en la actividad antifúngica observada.
7. En conjunto, los resultados confirman que *Styrax ramirezii* constituye una fuente potencial de compuestos naturales con actividad antifúngica frente a *Fusarium oxysporum*, con posible aplicación en el manejo sostenible de hongos fitopatógenos.

XI LITERATURA CITADA

- Abubakar, M. N., y Majinda, R. R. T. (2016). Análisis GC-MS y actividad antimicrobiana preliminar de *Albizia adianthifolia* (Schumach) y *Pterocarpus angolensis* (DC). *Medicamentos*, 3(1),3. <https://doi.org/10.3390/medicines3010003>
- Acedo-Zegarra, V. J., Arana-Bardales, D. F., & Condo-Montano, A. E. (2020). *Actividad antifúngica in vitro de diferentes concentraciones de Syzygium aromaticum “clavo de olor” contra Fusarium oxysporum*. *APS*, 1, 1–7. <https://doi.org/10.25127/aps.20201.541>
- Adetunji, C. O., Palai, S., Ekwuabu, C. P., Egbuna, C., Adetunji, J. B., EhisEriakha, C. B., ... Mtewa, A. G. (2021). General principle of primary and secondary plant metabolites: Biogenesis, metabolism, and extraction. In *Preparation of Phytopharmaceuticals for the Management of Disorders* (pp. 3–23)
- Albarracin-Gomez, Laura Daniela, Hortua-Gamboa, Stefany, & Acero-Godoy, Jovana. (2023). Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Lippia graveolens* sobre *Fusarium oxysporum* en la familia Solanaceae. Una revisión.*Revista Tecnología en Marcha*,36(1), 54-65.<https://dx.doi.org/10.18845/tm.v36i1.5877>
- Albert, L. A. (2015). *Panorama de los plaguicidas en México* [en línea]. Recuperado de <http://alef.mx/el-jarocho-cuatico-49-los-plaguicidas-en-mexico/>
- Ali, A. H. (2022). *High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A review*. *Annals of Advances in Chemistry*, 6(1), 010–020. <https://doi.org/10.29328/journal.aac.1001026>
- AlOti, F., Rizwana, H., Alharbi, R. I., Alshaikh, N., & Albasher, G. (2019). Antifungal effect of *Saussurea lappa* roots against phytopathogenic fungi and resulting morphological and ultrastructural changes. *Gesunde Pflanzen*, 71(4), 321–330. <https://doi.org/10.1007/s10343-019-00483-5>
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6(4), 42. <https://doi.org/10.3390/plants6040042>

- Andrade, C. M. R., Pozza, E. A., Pozza, A. A. A., & Carvalho, J. R. P. (2010). Use of plant extracts in the control of common bean anthracnose. *Crop Protection*, 29(7), 713–717. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.03.006>
- Asfaw, M. D., Yadeta, A. T., & Awoke, M. G. (2024). Determination of the fatty acid compositions and bioactive properties of *Argemone mexicana* seed oil. *Natural Product Communications*, 19(6). <https://doi.org/10.1177/1934578X241257824>
- Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), 196. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Azzahra, V. O., Mardiana, S., Suharyadi, S., & Sianipar, R. J. (2025). *Effect of solvent polarity on extraction yield, phytochemical composition, and antioxidant activity of Curcuma xanthorrhiza Roxb. and Moringa oleifera Lam.* Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry. <https://sciencebiology.org/index.php/BIOMEDICH/article/view/1032>
- Bedair, A. H., Emam, H. A., El-Hady, N. A., Ahmed, K. A., & El-Agrody, A. M. (2002). Synthesis and antimicrobial activities of the new naphtho[2,1-b]pyran, pyrano[2,3-d]pyrimidine and pyrano[3,2-e][1,2,4]triazolo[2,3-c]-pyrimidine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 37(4), 365–372. [https://doi.org/10.1016/S0014-827X\(01\)01168-5](https://doi.org/10.1016/S0014-827X(01)01168-5)
- Bertoldo, C., Gilardi, G., Spadaro, D., Gullino, M., & Garibaldi, A. (2014). Diversidad genética y virulencia de cepas italianas de *Fusarium oxysporum* aisladas de *Eustoma grandiflorum*. *European Journal of Plant Pathology*, 141, 83–97. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0526-2>
- Buchanan, B. B., Gruissem, W., & Jones, R. L. (2015). *Biochemistry & Molecular Biology of Plant* (2nd ed.). United Kingdom: John Wiley & Sons, Ltd. Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- Cai, H., Yu, N., Liu, Y., Wei, X., & Guo, C. (2022). Metanálisis de perfiles genéticos relacionados con la infección por fúngicos patógenos de plantas *Fusarium*

oxysporum utilizando conjuntos de datos de transcriptomas. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.970477>

Caretto, S., Linsalata, V., Colella, G., Mita, G., & Lattanzio, V. (2015). Carbon fluxes between primary metabolism and phenolic pathway in plant tissues under stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 26378-26394. <https://doi.org/10.3390/ijms161125942>

Carmona-Hernández, S., García-López, J. I., Díaz-Camacho, S. P., & López-Meyer, M. (2018). Antifungal activity of *Piper lapathifolium* extracts against *Fusarium oxysporum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 102, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.02.004>

Chacón, A. C., Velázquez, D. E., & Ramírez, M. J. (2021). Antifungal activity of *Piper auritum* extracts against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 22, 100298. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100298>

Chen, H., Yang, Y., Xue, J., Wei, J., Zhang, Z., & Chen, H. (2011). Comparative composition and antimicrobial activity of essential oils from chemically stimulated agarwood, wild agarwood and healthy *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg trees. *Molecules*, 16(6), 4884–4896. <https://doi.org/10.3390/molecules16064884>

Chen, P., Liu, Y., Li, C., Hua, S., Sun, C., & Huang, L. (2023). Mecanismo antibacteriano de la vainillina frente a *Escherichia coli* O157:H7. *Heliyon*, 9(9), e19280. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19280>

Chen, Q., Fung, K. Y., Lau, Y. T., Ng, K. M., & Lau, D. T. (2016). Relationship between maceration and extraction yield in the production of Chinese herbal medicine. *Food and Bioproducts Processing*, 98, 236-243.

Chen, Y. L., Li, X. J., Wu, Q. J., & Liu, H. P. (2015). Wilsonol A, a stilbenoid from *Styrax wilsonii*, exhibits antioxidant properties. *Natural Product Research*, 29(10), 971-976. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.982124>

Ciriminna, R., Carnaroglio, D., Delisi, R., Arvati, S., Tamburino, A., & Pagliaro, M. (2016). Industrial feasibility of natural products extraction with microwave technology. *Chemistry Select*, 1, 549-555.

- Coskun, O. (2016). Separation techniques: Chromatography. *Northern Clinics of Istanbul*, 3(2), 156-160.
- Cruz-Cerino, P., Cristóbal-Alejo, J., Ruiz-Carrera, V., Carnevali, G., Vera-Ku, M., Martín, J., Reyes, F., & Gamboa-Angulo, M. (2020). Extractos de seis plantas nativas de la península de Yucatán dificultan el crecimiento micelial de *Fusarium equiseti* y *Fusarium oxysporum*, patógenos de *Capsicum chinense*. *Pathogens*, 9(10), 827. <https://doi.org/10.3390/pathogens9100827>
- Da Porto, C., Decorti, D., & Natolino, A. (2016). Microwave pretreatment of Moringa oleifera seed: Effect on oil obtained by pilot-scale supercritical carbon dioxide extraction and Soxhlet apparatus. *The Journal of Supercritical Fluids*, 107, 38-43. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.08.015>
- Devi, A. M., Devi, K. K., Devi, P. M., Devi, M. L., & Das, S. (2023). Ingeniería metabólica de metabolitos secundarios de plantas: perspectivas y sus retos tecnológicos. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1171154>
- Devi, T. S., Vijay, K., Vidhyavathi, R. M., Kumar, P., Govarthanan, M., & Kavitha, T. (2021). Antifungal activity and molecular docking of phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) produced by plant growth-promoting actinobacteria strain TSII of *Kutzneria* sp. *Archives of Microbiology*, 203(7), 3253–3263. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02397-1>
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Ekwomadu, T. I., & Mwanza, M. (2023). *Fusarium fungi pathogens, identification, adverse effects, disease management, and global food security: A review of the latest research*. *Agriculture*, 13(9), 1810. <https://doi.org/10.3390/agriculture13091810>
- El-Baky, N. A., & Amara, A. A. (2021). Recent approaches towards control of fungal diseases in plants: An updated review. *Journal of Fungi*, 7, 900-916. <https://doi.org/10.3390/jof7110900>

- Fajdek-Bieda, A., Pawlińska, J., Wróblewska, A., & Łuś, A. (2024). Evaluación de la actividad antimicrobiana del geraniol y de los productos de transformación de geraniol seleccionados frente a bacterias grampositivas. *Molecules*, 29(5), 950. <https://doi.org/10.3390/molecules29050950>
- FAO & International Plant Protection Convention (IPPC). (2025). *Fusarium wilt TR4: Global threat to banana production* [Technical report]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Recuperado de https://assets.ippc.int/static/media/files/publication/en/2025/07/Fusarium_wilt_TR4.pdf
- FAO. (2022). Cinco formas en las que el cambio climático intensifica las amenazas para la salud de las plantas. Retrieved from <https://www.fao.org>
- Flor-Peregrín, E., Verdejo-Lucas, S., & Talavera, M. (2017). Combined use of plant extracts and arbuscular mycorrhizal fungi to reduce root-knot nematode damage in tomato. *Biological Agriculture & Horticulture*, 33, 115-124. <https://doi.org/10.1080/01448765.2017.1309536>
- Gan, H., & Wickings, K. (2017). Soil ecological responses to pest management in golf turf vary with management intensity, pesticide identity, and application program. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 246, 66-77.
- García-Morales, S., & León-Morales, J. M. (2023). Estrategia para mejorar la producción de metabolitos secundarios en plantas. *Revista CienciaUANL*, 24(106), 46–54. <https://cienciauanl.uanl.mx/ojs/index.php/revista/article/view/197>
- Gebbinck, E. A., Jansen, B. J. M., & Groot, A. (2002). Insect antifeedant activity of clerodane diterpenes and related model compounds. *Phytochemistry*, 61, 737-770.
- Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* and the Fusarium wilt syndrome. *Annual Review of Phytopathology*, 55(1), 23–39. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095919>
- Guimarães, A. J., Cordeiro, R. A., Freitas, R. M., de Alencar, L. D., & Lima, D. M. (2022). The potential of fatty acids and their derivatives as antifungal agents: A review. *Fitoterapia*, 158, 105143. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2022.105143>

- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3^a ed.). Springer.
- Harsimran, K. G., & Harsh, G. (2014). Pesticides: Environmental impacts and management strategies. In M. L. Larramendy & S. Soloneski (Eds.), *Pesticides - Toxic Aspects* (pp. 187-230). Intech. <https://doi.org/10.5772/57399>.
- Heleno, S. A., Diz, P., Prieto, M. A., Barros, L., Rodrigues, A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction to obtain mycosterols from *Agaricus bisporus* L. by response surface methodology and comparison with conventional Soxhlet extraction. *Food Chemistry*, 197, 1054-1063.
- Hernández-Reyes, A., Guzmán-Albores, J. M., De León-Rodríguez, A., Ruíz-Valdiviezo, V. M., Rodríguez-Ortiz, L. R., & Barba-de la Rosa, A. P. (2024). *Toxicological and sedative effects of chipilín (Crotalaria longirostrata) leaf extracts obtained by maceration and supercritical fluid extraction*. *ACS Omega*, 9(17), 18862–18871. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c08290>
- Hernández-Soto, I., Juárez-Maldonado, A., Madariaga-Navarrete, A., Sharma, A., Cenobio-Galindo, A. de J., Pinedo-Espinoza, J. M., Hernández-Pérez, A., & Hernández-Fuentes, A. D. (2025). *Argemone mexicana* L. extracts contain antifungal compounds for the in vitro control of *Monilinia fructicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* and *Sclerotinia sclerotiorum*: Preliminary evidence for field application. *Biotechnology (Basel)*, 14(4), 82. <https://doi.org/10.3390/biotech14040082>
- Huang, M., Sánchez-Moreiras, A., Abel, C., Sohrabi, R., Lee, S., Gershenzon, J., & Tholl, D. (2012). The major volatile organic compound emitted from *Arabidopsis thaliana* flowers, the sesquiterpene (E)- β -caryophyllene, is a defense against a bacterial pathogen. *New Phytologist*, 193, 997-1008.
- Iriarte Perdigón, A. (2022). Historia, desarrollo y últimos avances en cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Corporación Tecnológica de Bogotá. Disponible en: <https://repository.udca.edu.co/handle/111158/5009>
- Juárez-Rodríguez, M. M., Cortes-López, H., García-Contreras, R., González-Pedrajo, B., Díaz-Guerrero, M., Martínez-Vázquez, M., Rivera-Chávez, J. A., Soto-Hernández, R. M., & Castillo-Juárez, I. (2021). *Tetradecanoic acids with anti-virulence properties*

increase the pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* in a murine cutaneous infection model. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 597517. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.597517>

Kamble, M. P., Patil, C. R., & Jadhav, V. T. (2013). Antifungal activity of *Syzygium aromaticum* extracts against *Fusarium* species. *Plant Pathology Journal*, 12(4), 180–187. <https://doi.org/10.3923/ppj.2013.180.187>

Kim, D. O., Han, Y. S., & Kim, Y. H. (2014). Obassina, a flavonoid from *Styrax obassia*, exhibits antifungal activity against *Candida albicans*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(37), 9023–9028. <https://doi.org/10.1021/jf503860x>

Kim, M., Moon, H., Chung, J. H., Moon, Y. H., Hahm, K., & Woo, E. (2004). Matrix metalloproteinase-1 inhibitor from the stem bark of *Styrax japonica* S. et Z. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 52, 1466–1469. <https://doi.org/10.1248/cpb.52.1466>

Koca, M., Servi, S., Kirilmis, C., Ahmedzade, M., Kazaz, C., Ozbek, B., & Otük, G. (2005). Synthesis and antimicrobial activity of some novel benzofuran derivatives: Part 1. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 40(12), 1351–1358. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2005.07.004>

Lee, W., Park, H. J., & Lee, S. (2016). Phytol induces oxidative stress and membrane damage in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environmental Health Engineering and Management Journal*, 3(2), 81–88.

Leite, M. C. A., Bezerra, A. P. B., Sousa, J. P., & Lima, E. O. (2015). Investigating the antifungal activity and mechanism of geraniol against *Candida albicans* strains. *Medical Mycology*, 53(3), 275–284. <https://doi.org/10.1093/mmy/myu078>

Li, X., Yang, D., Li, X., Guo, X., & Huang, Y. (2019). Grandifolina, an alkaloid from *Styrax grandifolius*, shows antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. *Natural Product Research*, 33(14), 2061–2065. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1456217>

Li, X., Zhang, Y., Chen, H., & Wang, J. (2023). Synergistic effects of cinnamaldehyde and nonanal vapors against *Aspergillus flavus*. *International Journal of Food Microbiology*, 402, 110277. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110277>

- Liu, B. L., Huang, X. J., Ou-Yang, Z., & Yang, C. R. (2020). A new epicatechin glucopyranoside derivative and other phenolics from *Styrax* species. *Natural Product Research*, 34(9), 1340–1346. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1534400>
- Liu, B.-L., Hu, X., He, H.-L., Qiu, L., Li, Y.-Z., & Ding, W.-B. (2020). Un nuevo derivado de glucopiranosido de epicatequina de *Styrax suberifolius*. *Natural Product Research*, 34(14), 1977–1983. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1569011>
- Lucas, R., et al. (2025). *Non-chemical control of fungal pathogens in crops: A one-health perspective on strategies, mechanisms, and future directions*. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1746521. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1746521>
- Ma, K., Kou, J., Rahman, M. K. U., Du, W., Liang, X., Wu, F., Li, W., & Pan, K. (2021). Palmitic acid mediated change of rhizosphere and alleviation of Fusarium wilt disease in watermelon. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(6), 3616–3623. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.040>
- Mandal, A., Sarkar, B., Mandal, S., Vithanage, M., Patra, A. K., & Manna, M. C. (2020). Impact of agrochemicals on soil health. En Kuhl, M., & Butterworth-Hinemann, L. (Eds.), *Agrochemicals detection, treatment and remediation* (pp. 161–187). Oxford. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-103017-2.00007-6>
- Martínez-Solórzano, G. E., Rey-Brina, J. C., Pargas-Pichardo, R. E., & Enrique-Manzanilla, E. (2020). Marchitez por Fusarium raza tropical 4: Estado actual y presencia en el continente americano. *Fusarium wilt by tropical race 4: Current status and presence in the American continent*, 31(1), 259–276. <https://doi.org/10.15517/am.v31i1.37925>.
- Micera, M., Botto, A., Geddo, F., Antoniotti, S., Berteà, C. M., Levi, R., Gallo, P., & Querio, G. (2020). Squalene: More than a step toward sterols. *Antioxidants*, 9(8), 688. <https://doi.org/10.3390/antiox9080688>
- Mihajlovic, M., Rekanovic, E., Hrustic, J., Grahovac, M., & Tanovic, B. (2017). Métodos para el manejo de patógenos de plantas transmitidos por el suelo. *Pestic. Fitomed*, 32, 9–24. <https://doi.org/10.2298/PIF1701009M>

- Miramontes, F., Rodríguez, H., & López, R. (2024). Antifungal potential of *Lippia graveolens* extracts against *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in Agronomy*, 6, 205–214. <https://doi.org/10.3389/fagro.2024.00124>
- Misra, B. B. (2021). *Advances in high resolution GC-MS technology: A focus on the application of GC-Orbitrap-MS in metabolomics and exposomics for FAIR practices*. *Analytical Methods*, 13(20), 2265–2282. <https://doi.org/10.1039/d1ay00173f>
- Naqvi, S. A. H., Farhan, M., Ahmad, M., Kiran, R., Shahbaz, M., Abbas, A., Hakim, F., Shabbir, M., Tan, Y. S., & Seelan, J. S. S. (2025). *Fungicide resistance in Fusarium species: Exploring environmental impacts and sustainable management strategies*. *Archives of Microbiology*, 207(2), 31. <https://doi.org/10.1007/s00203-024-04219-6>
- Narangerel, T., Sójka, M., Bonikowski, R., Jastrzębek, K., Sroczyński, W., Plucińska, A., ... & Leszczyńska, J. (2021). Chemical and biological profile and allergenicity of *Thymus baicalensis* plant of Mongolian origin. *Antioxidants*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/antiox10121905>
- National Center for Biotechnology Information. (2023). *Nicotine*. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- Ncube, B., & Staden, J. V. (2015). Tilting plant metabolism for improved metabolite biosynthesis and enhanced human benefit. *Molecules*, 20, 12698-12731.
- Nguyen, T. M. H., Do, T. N. H., Pham, H. D., Tran, T. N. Q., & Nguyen, D. H. (2016). Ácido cinámico from *Styrax benzoin*: A potential candidate for antifungal agents. *Journal of Chemistry*, 2016, Article ID 4024615. <https://doi.org/10.1155/2016/4024615>
- Ninh, T. S., Nguyen, T. T. L., Nguyen, T. T., Nguyen, T. T. H., Le, T. T. A., Ba, T. C., Dang, T. T. A., & Nguyen, V. T. (2021). Genus *Styrax*: A resource of bioactive compounds. In Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 69, pp. 299–347). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819487-4.00008-2>
- Ojitos, K., & Portal, O. (2017). Metabolitos secundarios de las plantas, una alternativa para el manejo de enfermedades en cultivos de interés económico. *Academia Española*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.123456789>

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2025). *Manejo integrado de plagas*. FAO.
<https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/ipm/es/>
- Öztürk, S. E., Akgül, Y., & Anıl, H. (2008). Síntesis y actividad antibacteriana de derivados del egonol. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(8), 4431–4437.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.02.057>
- Paparella, A., Serio, A., Shaltiel-Harpaz, L., Revuru, B., Kongala, P. R., & Ibdah, M. (2024). *Styrax spp.: Habitat, phenology, phytochemicals, biological activity, and applications*. *Plants*, 13(13), 1837. <https://doi.org/10.3390/plants13131837>
- Paparella, A., Ubaldi, M., & Balestra, G. M. (2025). *Styrax spp.: Habitat, phenology, phytochemicals, biological activity and applications*. *Plants*, 14(5), 746.
<https://doi.org/10.3390/plants14050746>
- Park, C., Kim, G. Y., Choi, B. T., & Choi, Y. H. (2010). Styraxjaponoside A and B from *Styrax japonica* induce apoptosis in *Candida albicans*. *Phytomedicine*, 17(4), 278–284. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.06.009>
- Pastrana, A. M., Kirkpatrick, S. C., Kong, M., Broome, J. C., & Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*, a New Forma Specialis Causing Fusarium Wilt of Blackberry. *Plant Disease*, 101(12), 2066–2072. <https://doi.org/10.1094/pdis-03-17-0428-re>
- Pauletti, P. M., Araújo, A. R., Young, M. C. M., Giesbrecht, A. M., & da Silva Bolzani, V. (2000). Nor-lignanós de las hojas de *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) con actividad antibacteriana y antifúngica. *Phytochemistry*, 55(6), 597–601.
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00225-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00225-9)
- Pino, O., Sánchez, Y., & Rojas, M. M. (2013). Plant secondary metabolites as an alternative in pest management. I: Background, research approaches and trends. *Revista de Protección Vegetal*, 28, 81-94.
- Ploetz, R. C. (2006). Fusarium wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Phytopathology*, 96(6), 653-656.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0653>

- Prasath, K. G., Sethupathy, S., & Pandian, S. K. (2019). *Proteomic analysis reveals modulation of ergosterol, sphingolipid and oxidative stress pathways by myristic acid inhibiting biofilm and virulence in Candida albicans*. *Journal of Proteomics*, 207, 103503. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103503>
- Prasath, K. G., Tharani, H., & Pandian, S. K. (2020). Palmitic acid inhibits the virulence factors of *Candida tropicalis*: Biofilms, cell surface hydrophobicity, ergosterol biosynthesis, and enzymatic activity. *Frontiers in Microbiology*, 11, 864. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00864>
- Purushothaman, N., Rajasekar, T., Natarajan, D., & Kumar, S. V. (2024). Bioactive potential of *Excoecaria agallocha* L. leaf extract against pathogenic microbes and its chemical profiling by GC-MS. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 52, 102631. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.102631>
- Quinteros, E., Ribó, A., Mejía, R., López, A., Belteton, W., Comandari, A., Orantes, C. M., Pleites, E. B., Hernández, C. E., & López, D. L. (2017). Heavy metals and pesticide exposure from agricultural activities and former agrochemical factory in a Salvadoran rural community. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(2), 1662-1676. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7899-z>
- Ramesh, R., Jayaprakashvel, M., & Mathivanan, N. (2018). *Antifungal activity of medicinal plant extracts against Fusarium oxysporum*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(2), 3456–3464.
- Reigart, J. R., & Roberts, J. R. (2024). *Reconocimiento y manejo de los envenenamientos por pesticidas* (6ª ed.). Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA). <https://espanol.epa.gov>
- Ríos-López, A. L., Dávila-Aviña, J., González, G. M., & Flores-Maldonado, O. (2024). Antifungal and antivirulence activity of vanillin and tannic acid against *Aspergillus fumigatus* and *Fusarium solani*. *Current Microbiology*, 81(6), 156. <https://doi.org/10.1007/s00284-024-03678-w>
- Sánchez, J., Corrales, P., Rico, M., Lurá, M., Piattoni, C. V., & González, C. (2005). Viabilidad de cepas fúngicas conservadas mediante diferentes métodos. *FABICIB*, 8(1). <https://doi.org/10.14409/fabicib.v8i1.744>

- Sarria-Villa, J. A. Gallo-Corredor, M. I Páez (2017). Isolation of Catechin and Gallic Acid from Colombian Bark of *Pinus patula*. *Chemical Science Journal*, 8: 1-11
- Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). La carga mundial de patógenos y plagas en los principales cultivos alimentarios. *Nature Ecology & Evolution*, 3(3), 430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>
- Silveira-Gramont, M. I., Aldana-Madrid, M. L., Piri-Santana, J., Valenzuela-Quintanar, A. I., Jasa-Silveira, G., & Rodríguez-Olibarria, G. (2018). Plaguicidas agrícolas: un marco de referencia para evaluar riesgos a la salud en comunidades rurales en el estado de Sonora, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(1), 7-21. <https://doi.org/10.20937/rica.2018.34.01.01>
- Swamy, M. K., Arumugam, G., Kaur, R., Ghasemzadeh, A., Yusoff, M. M., & Sinniah, U. R. (2017). Metabolite profiling based on GC-MS, antioxidant and antimicrobial properties of different solvent extracts of *Plectranthus amboinicus* leaves from Malaysia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, Article ID 1517683. <https://doi.org/10.1155/2017/1517683>
- Taborda, B., Telles, I., Pareja, L., Niell, S., Jesús, F., & López, A. (2019). Comparación de diferentes métodos de extracción para la determinación del perfil lipídico en semillas de quinoa. *INNOTECH*, (17), 78-87. <https://doi.org/10.26461/17.08>
- Teixeira, A., Sánchez-Hernández, E., Noversa, J., Cunha, A., Cortez, I., Marques, G., Martín-Ramos, P., & Oliveira, R. (2023). Actividad antifúngica de extractos de residuos vegetales contra hongos fitopatógenos: *Allium sativum* como un producto promotor dirigido a la membrana plasmática y la pared celular de los hongos. *Horticulturae*, 9(2), 136. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020136>
- Teles, H. L., Hemerly, J. P., Pauletti, P. M., Pandolfi, J. R., Araujo, A. R., Valentini, S. R., Young, M. C., Bolzani, V. S., & Silva, D. H. (2005). Cytotoxic lignans from the stems of *Styrax camporum* (Styracaceae). *Natural Product Research*, 19(4), 319-323.
- Timmers, M. A., Guerrero-Medina, J. L., Esposito, D., Grace, M. H., Paredes-López, O., García-Saucedo, P. A., & Lila, M. A. (2015). Characterization of Phenolic

- Compounds and Antioxidant and Antiinflammatory Activities from Mamuyo (*Styrax ramirezii* Greenm.) Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(48), 10459–10465. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04580>
- Valle Ortiz, D. J., Águila Muñoz, D. G., Cruz López, M. del C., Cortés Espinosa, D. V., Rosales Castro, M., & Jiménez Montejó, F. E. (2025). Comparación de métodos de extracción de metabolitos secundarios en *Hamelia patens* Jacq. y su efecto inhibidor sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Metabolitos*, 15(1), 23. <https://doi.org/10.3390/metabo15010023>
- Wang, C. Y., Li, Y., & Liu, Y. F. (2013). Hemsleyano A, a phenylpropanoid from *Styrax hemsleyanus* with antifungal activity against plant pathogens. *Journal of Natural Products*, 76(11), 2164–2167. <https://doi.org/10.1021/np400373s>
- Xia, D. D., Han, X. Y., Zhang, Y., & Zhang, N. (2023). Constituyentes químicos y sus actividades biológicas del género *Styrax*. *Productos farmacéuticos (Basilea)*, 16(7), 1043. <https://doi.org/10.3390/ph16071043>
- Yanar, Y., Kadioglu, I., & Sivri, D. (2011). In vitro antifungal activities of 26 plant extracts on the mycelial growth of *Phytophthora infestans*. *African Journal of Biotechnology*, 10(48), 9864–9869. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2>
- Yang, W., Zhang, L., Yang, Y., Xiang, H., & Yang, P. (2024). *Plant secondary metabolites-mediated plant defense against bacteria and fungi pathogens*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 217, 109224. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.109224>
- Youssef, K., de Oliveira, A. G., Tischer, C. A., Hussain, I., & Roberto, S. R. (2019). Efecto sinérgico de una nueva formulación basada en nanocompuestos de quitosano/sílice contra el moho gris de las uvas de mesa y su posible modo de acción. *International Journal of Biological Macromolecules*, 141, 247–258. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.148>
- Zhang, Y., Wang, Y., Zhu, X., Cao, P., Wei, S., & Lu, Y. (2020). Bioactive potential of 2-methoxy-4-vinylphenol and benzofuran from *Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*

- (red cabbage) on oxidative and microbiological stability of beef meat. *Food Control*, 110, 106993. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106993>
- Zhang, Y., Zhao, X. C., Xie, Y. G., Fan, C., Huang, Y. Y., Yan, S. K., Zhang, Y., Jin, H. Z., & Zhang, W. D. (2017). Eight new γ -lactam alkaloids from the roots of the *Hemerocallis minor* Mill. *Fitoterapia*, 118, 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.04.001>
- Zhao, J., Jiang, L., Tang, X., Peng, L., Li, X., Zhao, G., & Zhong, L. (2018). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the floral volatile oils of *Fagopyrum esculentum*, *Fagopyrum tataricum* and *Fagopyrum cymosum*. *Molecules*, 23(1), 182. <https://doi.org/10.3390/molecules23010182>
- Zhuo He, Dai-Chuan Huang, Dale Guo, Fang Deng, Qiang Sha, Ming-Zhi Zhang, Wei-Hua Zhang, Yu-Cheng Gu, Synthesis, fungicidal activity and molecular docking studies of tavaborole derivatives, *Advanced Agrochem*, Volume 2, Issue 2, 2023, Pages 185-195, ISSN 2773-2371. <https://doi.org/10.1016/j.aac.2023.05.004>
- Degani O. *Plant Fungal Diseases and Crop Protection*. *Journal of Fungi*. 2025;11(4):274. doi:10.3390/jof11040274.
- Isman, M. B. (2020). *Botanical insecticides in the twenty-first century—fulfilling their promise?* *Annual Review of Entomology*, 65, 233–249. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025010>
- Albarracin-Gomez, L. D., Hortua-Gamboa, S. D., & Acero-Godoy, J. (2023). *Efecto inhibitorio del aceite esencial de Lippia graveolens sobre Fusarium oxysporum en la familia Solanaceae. Una revisión*. *Revista Tecnología en Marcha*, 36(1), 54–65. <https://doi.org/10.18845/tm.v36i1.5877> ç
- Omeroglu, Y., Ingle, T., & Manousi, N. (2019). *Conventional extraction methods for bioactive compounds from plant materials: maceration, Soxhlet, and distillation techniques*. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1615338. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1615338>
- Sharma, M., Bishnoi, S., & Mathur, A. (2021). *Solvent polarity and its influence on bioactive compound extraction from Himalayan medicinal plants*. *Kurdish Studies*, 9(2), 374–380. <https://doi.org/10.53555/ks.v9i2.4040>

Cristina Ayala Mondragón

Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de extractos de *Styrax ramirezii* Greenm. frente a *Fusarium oxysporum*.pdf

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

tm:oid::3117:558197203

80 páginas

Fecha de entrega

18 feb 2026, 9:05 a.m. GMT-6

17,374 palabras

104,690 caracteres

Fecha de descarga

18 feb 2026, 9:12 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de extractos de *Styrax ramirezii* Greenm. frente apdf

Tamaño del archivo

2.2 MB

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Programa Institucional De Maestría en Ciencias Biológicas	
Título del trabajo	Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de extractos de <i>Styrax ramirezii</i> Greenm. frente a <i>Fusarium oxysporum</i>	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Ing.Cristina Ayala Mondragon	1243037b@umich.mx
Director	Dr.Pedro Antonio García Saucedo	antonio.garcia@umich.mx
Codirector	Dr.Ángel Abad del Río Chávez	abad.del.rio@umich.mx
Coordinador del programa	Dra. Rosa Elvira Núñez Anita	mae.ciencias.biologicas@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	Sí	Apoyo en la mejora de la redacción académica, claridad del texto y coherencia, sin generar datos experimentales ni resultados.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	Si	Apoyo para la traducción de fragmentos técnicos del inglés al español, manteniendo el sentido científico original.
Traducción a otra lengua	No	No se utilizó para la traducción a otros idiomas.
Revisión y corrección de estilo	Si	Revisión gramatical, ortográfica y de estilo del documento final.
Análisis de datos	No	El análisis de datos se realizó mediante métodos estadísticos y software especializado, sin intervención de inteligencia artificial.
Búsqueda y organización de información	Si	Apoyo para identificar, organizar y estructurar información bibliográfica de carácter general.
Formateo de las referencias bibliográficas	Si	Apoyo en la adecuación del formato de referencias conforme a normas académicas.
Generación de contenido multimedia	No	No se utilizó inteligencia artificial para la generación de imágenes, gráficos o material audiovisual.
Otro	No	No se realizó otro tipo de uso de inteligencia artificial.

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Cristina Ayala Mondragon 
Lugar y fecha	29/01/2026 Morelia Michoacán