

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA**

**TESIS PARA OBTENER
EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

**“EFECTO *IN VITRO* DE EXTRACTOS Y ACEITES
ESENCIALES DE ORTIGA (*Urtica dioica* L.) Y RUDA
(*Ruta graveolens*) SOBRE MONILIASIS (*Moniliophthora
roreri*) EN CACAO (*Theobroma cacao*)”.**

Autor:

Bach. Carlos Enrique Torrejon Tafur

Asesor:

Ph.D. Santos Triunfo Leiva Espinoza

Registro: (.....)

CHACHAPOYAS – PERÚ

2023

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-H

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM

1. Datos de autor 1

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): TORREJON TAFUR, Carlos Enrique
DNI N°: 72684000
Correo electrónico: 7268400032@untrm.edu.pe
Facultad: Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias
Escuela Profesional: Ingeniería Agrónoma

Datos de autor 2

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): _____
DNI N°: _____
Correo electrónico: _____
Facultad: _____
Escuela Profesional: _____

2. Título de la tesis para obtener el Título Profesional

EFEECTO IN VITRO DE EXTRACTOS Y ACEITES ESENCIALES DE ORTIGA (*Urtica dioica* L.) Y EDDA (*Ruta graveolens*)
SOBRE MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) EN CACAO (*Theobroma cacao*)

3. Datos de asesor 1

Apellidos y nombres: LEIVA ESPINOZA Santos Triunfo
DNI, Pasaporte, C.E.N°: 4165287
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>): 0000-0001-1310-1994

Datos de asesor 2

Apellidos y nombres: _____
DNI, Pasaporte, C.E.N°: _____
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>): _____

4. Campo del conocimiento según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos- OCDE (ejemplo: Ciencias médicas, Ciencias de la Salud-Medicina básica-Immunología)

https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/orde_ford.html
4.00.00 - Ciencias Agrícolas / 4.01.00 - Agronomía

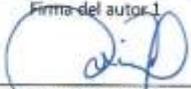
5. Originalidad del Trabajo

Con la presentación de esta ficha, el(la) autor(a) o autores(as) señalan expresamente que la obra es original, ya que sus contenidos son producto de su directa contribución intelectual. Se reconoce también que todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal.

6. Autorización de publicación

El(las) titular(es) de los derechos de autor otorga a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), la autorización para la publicación del documento indicado en el punto 2, bajo la *Licencia creative commons* de tipo BY-NC: Licencia que permite distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial por lo que la Universidad deberá publicar la obra poniéndola en acceso libre en el repositorio institucional de la UNTRM y a su vez en el Registro Nacional de Trabajos de Investigación-RENATI, dejando constancia que el archivo digital que se está entregando, contiene la versión final del documento sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador.

Chachapoyas, 31 / Mayo / 2023


Firma del autor 1

Firma del Asesor 1

Firma del autor 2

Firma del Asesor 2

DEDICATORIA

Tengo dos personas muy especiales que siempre están para mí pase lo que pase y ellos son mis queridos padres, a mi querida hermana que siempre me está brindando su apoyo, a mi amor y al regalito que se viene en camino, ya que siempre me está dando su apoyo a pesar donde se encuentre e hizo posible avanzar mi tesis, a mis docentes universitarios por mi formación académica profesional y como no mencionar a la “Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza”, quienes sin su ayuda no hubiese podido hacer esta tesis. Para todos ustedes hago esta dedicatoria.

Carlos Enrique Torrejon Tafur

AGRADECIMIENTO

A la escuela superior “Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas”, a la plana docente de la Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma, de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias que me dieron alcance de sus experiencias y conocimientos para mi formación.

Al Ph.D. Santos Triunfo Leiva Espinoza, encargado del Laboratorio de Investigación de Sanidad Vegetal (LABISANV) que es perteneciente al Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES), agradecerle por su apoyo mediante el asesorado y brindarme la disponibilidad de las instalaciones de dicho laboratorio para poder ejecutar mi tesis.

Al Dr. Erick Aldo Auquiñivín Silva, Decano de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, por brindarme el acceso al Laboratorio de Ingeniería para la extracción de los aceites esenciales.

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ
DE MENDOZA DE AMAZONAS**

Ph. D. JORGE LUIS MAICELO QUINTANA
RECTOR

Dr. OSCAR ANDRÉS GAMARRA TORRES
VICERRECTOR ACADÉMICO

Dra. MARÍA NELLY LUJÁN ESPINOZA
VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN

Dr. ERICK ALDO AUQUÍÑIVÍN SILVA
DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-L

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (x)/Profesional externo (), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada "EFECTO IN VITRO DE EXTRACTOS Y ACEITES ESENCIALES DE ORTIGA (*Urtica dioica*) Y RUDA (*Ruta graveolens*) SOBRE MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) EN CACAO (*Theobroma cacao*)"; del egresado Carlos Enrique Torrejon Tafur de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma de esta Casa Superior de Estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 29 de Marzo de 2023

Firma y nombre completo del Asesor
Ph.D. Santos Triunfo Leiva Espinoza

JURADO EVALUADOR DE LA TESIS



Dr. SEGUNDO MANUEL OLIVA CRUZ

PRESIDENTE



Ing. M.Sc. CESAR GUEVARA HOYOS

SECRETARIO



Ing. GUILLERMO DROGGO VÁSQUEZ

VOCAL

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL

PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER, MAÉSTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-Q

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

"EFECTO IN VITRO DE EXTRACTOS Y ACEITES ESENCIALES DE ORTIGA (*Urtica dioica* L.) Y RUDA (*Ruta graveolens*) SOBRE MONILIASIS (*Moniliophthora roreri*) EN CACAO (*Theobroma cacao*)"
presentada por el estudiante ()/egresado (X) Carlos Enrique Torrejon Tafur
de la Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma
con correo electrónico institucional _____

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- La citada Tesis tiene 21 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (X) / igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- La citada Tesis tiene _____ % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.

Chachapoyas, 03 de mayo del 2023


SECRETARIO


PRESIDENTE


VOCAL

OBSERVACIONES:

.....
.....

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-S

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 24 de mayo del año 2023, siendo las 11:00am horas, el aspirante: Carlos Enrique Torrejon Tafur, asesorado por Ph.D. Santos Triunfo Leiva Espinoza defiende en sesión pública presencial () / a distancia () la Tesis titulada: "EFECTO IN VITRO DE EXTRACTOS Y ACEITES ESENCIALES DE URTICA (Urtica dioica L.) Y RUDA (Ruta graveolens) SOBRE MONILIASIS (Moniliophthora roreri) EN CACAO (Theobroma cacao)", para obtener el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo, a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: Dr. Segundo Manuel Oliva Cruz

Secretario: Ing. M.Sc. Cesar Guevara Hoyos

Vocal: Ing. Guillermo Idrogo Vasquez

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones; haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

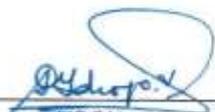
Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () por Unanimidad () / Mayoría () Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 11:50 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.


SECRETARIO


VOCAL


PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

ÍNDICE

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO	iv
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS	v
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS.....	vi
JURADO EVALUADOR DE LA TESIS.....	vii
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS.....	viii
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS.....	ix
ÍNDICE.....	x
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT.....	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	16
II. MATERIAL Y MÉTODOS	18
2.1. Lugar de ejecución	18
2.2. Diseño de la investigación.....	19
2.3. Características del experimento.....	20
2.4. Metodología	21
2.5. Análisis de datos	21
2.6. Variables de estudio y su metodología de evaluación	22
III. RESULTADOS	28
3.1. Inhibición del crecimiento radial con extracto de ortiga (<i>Urtica dioica</i> L.)..	28

3.2.	Inhibición de esporulación con extracto de ortiga (<i>Urtica dioica</i> L.)	29
3.3.	Inhibición del crecimiento radial con extracto de ruda (<i>Ruta graveolens</i>)	30
3.4.	Inhibición de esporulación con extracto de ruda (<i>Ruta graveoles</i>)	31
3.5.	Inhibición del crecimiento radial e inhibición de esporulación con aceite esencial de ortiga (<i>Urtica dioica</i> L.)	31
3.6.	Inhibición del crecimiento radial e inhibición de esporulación con aceite esencial de ruda (<i>Ruta graveolens</i>).....	32
IV.	DISCUSIÓN	33
V.	CONCLUSIONES	36
VI.	RECOMENDACIONES	37
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
	ANEXOS.....	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Descripción de los tratamientos</i>	19
Tabla 2. <i>Características generales del experimento</i>	20
Tabla 3. <i>Cuadro ANVA del experimento</i>	22
Tabla 4. <i>Inhibición del crecimiento radial con extracto de Urtica dioica contra Moniliasis</i>	43
Tabla 5. <i>Inhibición de esporulación con extracto de Urtica dioica contra Moniliasis</i> .	43
Tabla 6. <i>Inhibición de crecimiento radial con extracto de Ruta graveolens contra Moniliasis</i>	43
Tabla 7. <i>Inhibición de esporulación con extracto de Ruta graveolens contra Moniliasis</i>	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Ubicación geográfica y croquis de LABISANV, ciudad universitaria UNTRM-A.</i>	18
Figura 2. <i>Diseño experimental</i>	20
Figura 3. <i>Inhibición del crecimiento radial de Moniliophthora roreri bajo cinco concentraciones de extracto de Urtica dioica L.</i>	28
Figura 4. <i>Inhibición de esporulación de Moniliophthora roreri bajo cinco concentraciones de extracto de Urtica dioica L</i>	29
Figura 5. <i>Inhibición del crecimiento radial de Moniliophthora roreri bajo cinco concentraciones de extracto de Ruta graveolens.</i>	30
Figura 6. <i>Inhibición de esporulación de Moniliophthora roreri bajo cinco concentraciones de extracto de Ruta graveolens.</i>	31
Figura 7. <i>Recolección de Moniliasis en mazorcas de cacao</i>	44
Figura 8. <i>Preparado de extractos y destilado de aceites esenciales</i>	45
Figura 9. <i>Preparado de medio de cultivo PDA más extracto o aceite esencial</i>	46
Figura 10. <i>Evaluación de los medios de cultivo PDA con extracto o aceite esencial</i> ...	46

RESUMEN

En el presente proyecto de investigación, el objetivo fue la evaluación del efecto *in vitro* de extractos y aceites esenciales de ortiga (*Urtica dioica* L.) y ruda (*Ruta graveolens*) sobre moniliasis (*Moniliophthora roreri*) de cacao (*Theobromas cacao*). Los aceites esenciales se obtuvieron por el método de destilación por arrastre de vapor y los extractos por el método de maceración. Para comprobar los efectos de los aceites esenciales y los extractos, estos se prepararon junto al medio de cultivo PDA a concentraciones de 0%, 5%, 10%, 15% y 20% v/v para cada uno y siendo incubados a una temperatura de 28 °C. La primera variable de evaluación que es la inhibición del crecimiento radial, el extracto de ortiga al 20% inhibió el crecimiento en un 53,79%, el extracto de ruda a una concentración del 20% inhibió el crecimiento en un 47,28%. La segunda variable de evaluación que es la inhibición de esporulación, el extracto de ortiga a un 15% y 20% inhibió la esporulación en 68,98% y 77,95% respectivamente, sin encontrar diferencia significativa, el extracto de ruda a un 20% inhibió la esporulación en un 79,37%. Las concentraciones utilizadas con el aceite esencial de ruda fueron muy altas, estos inhibiendo el crecimiento radial y la esporulación en su totalidad, el aceite esencial de ortiga por el método de destilación por arrastre a vapor se obtuvo en cantidades muy pequeñas. Concluyendo que el aceite esencial de ruda, los extractos de ruda y ortiga si detienen el crecimiento y esporulación de *Moniliophthora roreri*.

Palabras claves: *Moniliophthora roreri*, aceites esenciales, maceración, esporulación, destilación al vapor.

ABSTRACT

In this research project, the objective was the evaluation of the in vitro effect of extracts and essential oils of nettle (*Urtica dioica* L.) and rue (*Ruta graveolens*) on moniliasis (*Moniliophthora roreri*) of cocoa (*Theobromas cacao*). The essential oils were obtained by the steam distillation method and the extracts by the maceration method. To verify the effects of the essential oils and the extracts, these were prepared together with the PDA culture medium at concentrations of 0%, 5%, 10%, 15% and 20% v/v for each one and being incubated at a temperature of 28°C. The first evaluation variable, which is the inhibition of radial growth, nettle extract at 20% inhibited growth by 53.79%, rue extract at a concentration of 20% inhibited growth by 47.28%. The second evaluation variable, which is the inhibition of sporulation, the nettle extract at 15% and 20% inhibited sporulation by 68.98% and 77.95% respectively, without finding a significant difference, the rue extract at 20% inhibited sporulation by 79.37%. The concentrations used with the essential oil of rue were very high, these inhibiting radial growth and sporulation in its entirety, the essential oil of nettle by the steam distillation method was obtained in very small quantities. Concluding that rue essential oil, rue and nettle extracts do stop the growth and sporulation of *Moniliophthora roreri*.

Key words: *Moniliophthora roreri*, essential oils, maceration, sporulation, steam distillation.

I. INTRODUCCIÓN

La pudrición helada de las mazorcas o pudrición de la monilia de la mazorca es causada por *Moniliophthora roreri*, siendo esta una enfermedad neo tropical y un patógeno hemibiotrófico coevolucionado *M. roreri* surgió en *Theobroma gileri* en bosques submontanos en las laderas noroccidentales de los Andes (Evans, 2007). *M. roreri* se encuentra actualmente distribuido en diferentes países de centro américa y américa del sur, en el Perú se puede encontrar al noroeste (Ploetz, 2016). Si *M. roreri* sale de América, este tiene la posibilidad de acabar el suministro mundial de cacao (Vicente, 2018).

M. roreri es una de las enfermedades que causan la pudrición helada de las mazorcas, estas enfermedades pueden dañar en 90% el cultivo y esto puede llevar al abandono del cultivo (Bailey et al., 2018). Por el año 2001 se perdieron 30.000 toneladas y por el año 2012 se perdieron 53.000 toneladas, la mayor pérdida se llevó en Costa Rica ya que tuvo una caída abrupta de 12.000 toneladas en 1962 a 708 toneladas en 2001 (Ploetz, 2016).

En 1988 apareció en Perú por primera vez, específicamente en la provincia de Bagua Grande en la región Amazonas (Ploetz, 2016), las perdidas por *M. roreri* en el Perú se encuentra en un rango del 16 y 80%, esto puede variar según la zona, época del año y de acuerdo a las condiciones climáticas. La presencia de *M. roreri* en los lugares cacaoteros de Perú son: Ayacucho (Vrae 60%); Cajamarca (Jaen – San Ignacio 80%); San Martín (Juanji 15%, Saposoa 30%, Tarapoto 20%, Tocache 30%); Amazonas (Bagua – Uctubamba el 60%); Junín (Satipo 85%); Ucayali (Padre Abad en un 20%) y Cusco (La Convención 25%) (Villamil et al., 2012).

En el año 2018 el mercado de la Unión Europea afectó a gran parte de la producción peruana, ya que estos impusieron límites por la presencia de cadmio en los derivados del cacao, de esa manera debilitando la exportación a dicho mercado Coronel et al, (2021), la mayor causa de dicho suceso es debido que usan fungicidas de origen químico para el control de enfermedades Acosta y Villa (2016), lo cual esto tiene un impacto negativo en lo socioeconómico y ambiental Roshinus et al, (2020).

Para el manejo de esta enfermedad se requiere de enfoques integradores, con un paquete de labores como lo son: biológicos, genéticos, culturales y químicos, de esta manera el hongo no puede crear resistencia a ciertas labores agrícolas y al mismo

tiempo podemos ser amigables con el medio ambiente Acebo et al, (2012). Los diferentes tipos de extracto de ciertas plantas pueden sintetizar metabolitos primarios y secundarios (flavonoides, fenoles, quinonas, cumarinas, flavonas, taninos y ácidos fenólicos) lo cual estos tienen un efecto antimicrobiano, dando como resultado una defensa contra microorganismos patógenos y siendo amigable con el medio ambiente Gurjar et al, (2012), del mismo modo los compuestos químicos obtenidos de los aceites esenciales fueron demostrados que tienen un efecto antimicrobiano contra un amplio número de patógenos, donde llegan a ser productos biodegradables y que carecen de toxicidad para el medio ambiente (Soylu et al., 2006).

Con lo escrito anteriormente, el uso de extractos y aceites esenciales de diferentes especies vegetales pueden ser una alternativa para luchar contra la *M. roreri*, ya que estos pueden tener resultados satisfactorios en lo económico, ambiental y sobre todo una producción orgánica ya que en los últimos años va creciendo la demanda. En ese contexto, en la presente investigación se buscó evaluar de forma *in vitro* la inhibición del crecimiento radial e inhibición de la esporulación de moniliasis (*Moniliophthora roreri*) usando extractos y aceites esenciales de ortiga (*Urtica dioica L.*) y ruda (*Ruta graveolens*).

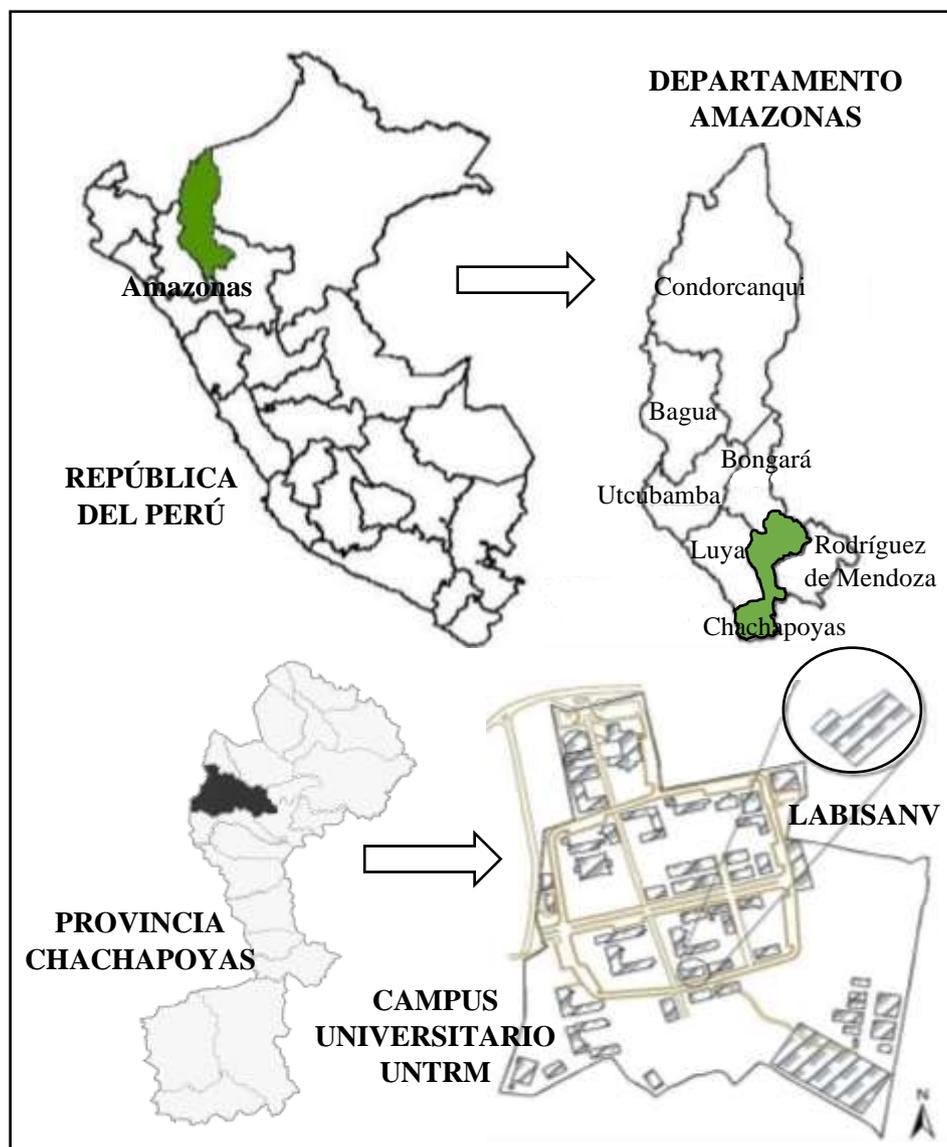
II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Lugar de ejecución

Esta investigación se ejecutó entre los meses de noviembre del 2020 hasta julio del 2021, la presente investigación fue realizada en el Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Chachapoyas, específicamente en las instalaciones del Laboratorio de Investigación de Sanidad Vegetal (LABISANV).

Figura 1

Ubicación geográfica y croquis de LABISANV, ciudad universitaria UNTRM-A.



Fuente: Elaboración propia.

2.2. Diseño de la investigación

A. Descripción de los tratamientos

Tabla 1

Descripción de los tratamientos

Experimento: 01 con extracto			Experimento: 02 con aceite esencial		
Especie a utilizar	Concentraciones	Descripción	Especie a utilizar	Concentraciones	Descripción
A= <i>Urtica dioica</i> L.	C1=0%	T0=AC1	B= <i>Urtica dioica</i> L.	C1=0%	T0=BC1
	C2=5%	T1=AC2		C2=5%	T1=BC2
	C3=10%	T2=AC3		C3=10%	T2=BC3
	C4=15%	T3=AC4		C4=15%	T3=BC4
	C5=20%	T4=AC5		C5=20%	T4=BC5
Experimento: 03 con extracto			Experimento: 04 con aceite esencial		
Especie a utilizar	Concentraciones	Descripción	Especie a utilizar	Concentraciones	Descripción
D= <i>Ruta graveolens</i>	C1=0%	T0=DC1	E= <i>Ruta graveolens</i>	C1=0%	T0=EC1
	C2=5%	T1=DC2		C2=5%	T1=EC2
	C3=10%	T2=DC3		C3=10%	T2=EC3
	C4=15%	T3=DC4		C4=15%	T3=EC4
	C5=20%	T4=DC5		C5=20%	T4=EC5

En la **Tabla 01**, se observa 04 experimentos independientes, donde se probaron el efecto *in vitro* de extractos y aceites esenciales de *Urtica dioica* L y *Ruta graveolens* contra *Moniliophthora roreri*. Para la definición de los tratamientos se menciona que: A=extracto de *Urtica dioica* L, B=aceite esencial de *Urtica dioica* L, D=extracto de *Ruta graveolens*, E=aceite esencial de *Ruta graveolens*, Tn=tratamientos y Cn=concentraciones.

B. Tratamientos

Figura 2

Diseño experimental

EXPERIMENTO 01					EXPERIMENTO 02				
T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂
T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁
T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀
T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄

EXPERIMENTO 03					EXPERIMENTO 04				
T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂
T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁
T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀
T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄

Fuente: Elaboración propia

En la **Figura 02**, se tienen el experimento 01=extracto de *Urtica dioica* L., experimento 02=aceite esencial de *Urtica dioica* L., experimento 03= extracto de *Ruta graveolens* y experimento 04=aceite esencial de *Ruta graveolens*, cada uno de ellos con sus cinco tratamientos y cinco repeticiones cada uno. En este caso el testigo (**T0**) fue distribuido en cada uno de los ensayos. Siendo el **T0** lo que determinó si existió algún efecto o cambio en cada uno de los tratamientos y cuál de ellos fue el mejor.

2.3. Características del experimento

Tabla 2

Características generales del experimento.

Diseño completamente al Azar	
Tratamientos	5
N° de unidades experimentales por repetición	5
Total de unidades experimentales por tratamiento	100
Medidas de placas por tratamiento	90mm
N° de placas petri a evaluar	100

2.4. Metodología

Población

La población estudiada estuvo conformada por 100 placas Petri, que contuvieron extractos y aceites esenciales de ortiga (*Urtica dioica* L.) y ruda (*Ruta graveolens*) para el biocontrol de moniliasis (*Moniliophthora roreri*).

Muestra

Para el presente estudio la muestra fue igual que la población, se evaluaron 100 placas (cada uno de 90 mm de diámetro).

Muestreo

El muestreo fue de tipo probabilístico.

2.5. Análisis de datos

Diseño de la investigación

Se estableció cuatro experimentos independientes, uno por cada extracto y aceite esencial. Cada experimento tuvo un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cinco tratamientos que incluye al testigo (0%, 5%, 10%, 15% y 20% v/v de las concentraciones de extractos y aceites esenciales), cada tratamiento tuvo cinco repeticiones independientes. Todos los datos generados fueron analizados por un análisis de varianza (ANVA), al 5% de significancia; en el caso de significancia en los tratamientos en estudio, se sometió a un análisis de comparación múltiples Tukey ($\alpha > 5\%$) y se procesó mediante el paquete estadístico Infostat (versión 2012e; Córdoba Argentina).

Modelo aditivo lineal

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Control de *Moniliophthora roreri* en la i-ésima dosis del tipo de control y j-ésima repetición.

μ : Efecto de la media general.

T_i : Efecto del i-ésimo tratamiento.

E_{ij} : Efecto aleatorio (error experimental) que pertenece a la Y_{ij} observación de la variable respuesta con i-ésimo tratamiento, j-ésimo tratamiento.

Esquema del análisis de varianza

Prueba de hipótesis

La hipótesis para tratamientos.

$$H_0: T_0 = T_1 = T_2 = \dots = T_4$$

$H_a: T_0 \neq T_1 = T_2 = \dots = T_4$ para $i = 0, 1, 2, \dots, 4$ tratamientos.

Nivel de significación: $\alpha = 5\%$

Tabla 3

Cuadro ANVA del experimento

Fuente de Variación	Grados de libertad (GL)	Suma de Cuadrados (SC)	Cuadrados Medios	F_{calc}	p-value
Tratamiento	$t - 1$	$SC_{Tratamientos}$	$CM_{tratamiento}$	$\frac{CM_{tratamientos}}{CM_E}$	$P (F > F_0)$
Error	$\sum_{i=1}^t (n_i - 1)$	SC_{error}	CME		
Total	$\sum_{j=1}^t (n_i - 1)$	SC_{total}			

2.6. Variables de estudio y su metodología de evaluación

Porcentaje de inhibición del crecimiento radial

Para medir el porcentaje del crecimiento radial del agente infeccioso, se realizaron dos líneas perpendiculares que intersecan en el centro del disco sembrado con *Moniliophthora roreri*, para posteriormente medir el diámetro de cada placa sembrada. Las medidas se realizaron cada 24 horas hasta que la placa del testigo T0 cubriera las tres cuartas partes con el agente infeccioso, lo cual nos llevó 9 días.

Porcentaje de inhibición de formación de esporas

El porcentaje de inhibición de formación de esporas del agente infeccioso se determinó contando las esporas en el hemocitómetro (cámara Neubauer). El

conteo de esporas se realizó cuando la placa testigo llegó a cubrir las tres cuartas partes con el agente infeccioso, donde se realizó al noveno día desde la siembra.

Métodos y técnicas e instrumentos para la recolección de datos y procedimiento.

Recolección de plantas

Las especies vegetales *Urtica dioica* L. y *Ruta graveolens* se recolectaron en el anexo de Taquia del distrito de Chachapoyas, provincia Chachapoyas, departamento de Amazonas a una altura de 2334 msnm.

Preparación de extractos

Para obtener los extractos de ortiga (*Urtica dioica* L.) y ruda (*Ruta graveolens*) fue de acuerdo a lo descrito por (Martín et al., 2017).

- Se pesaron 500 gr de material vegetal en una balanza analítica y se lavaron las hojas con lejía al 0.5%, para posteriormente enjuagarle con agua destilada.
- Con un bisturí lavado con lejía al 0.5% se cortó la parte aérea de las plantas ya sean flores, tallos y hojas en trozos de 2 cm aproximadamente para colocarles en un mortero y ser triturados, esto fue adjuntado en un vaso precipitado con 500 ml de agua destilada.
- Se dejó macerando por 07 días, para ser agitado por 3 minutos diario con una varilla de vidrio.
- Pasado el tiempo de siete días, con ayuda de un embudo de vidrio y papel filtro Whatman N° 01 se pasó a filtrar.
- Una vez realizado el filtrado de los extractos, se guardó en un frasco ámbar y se guardó en un lugar seguro, fresco, oscuro y a temperatura ambiente.

Obtención de los aceites esenciales

Para adquirir los aceites esenciales de ortiga (*Urtica dioica* L.) y ruda (*Ruta graveolens*) se utilizó el método de destilación por arrastre de vapor, descrito por (Ventura, 2017).

- Se lavaron las especies vegetales con agua para eliminar restos de tierras e insectos que se encontraban y luego se oreo por 24 horas a temperatura ambiente.

- Se montó el equipo de destilación por arrastre al vapor, para posteriormente pesar 10 kg del material vegetal y se colocó en el tanque superior del equipo, en el tanque generador de vapor se agregó 15 litros de agua destilada.
- Se encendió la cocina industrial del equipo por un lapso de 2 a 3 horas, cuando ya no se observaba más la salida del aceite esencial, esto se dio por finalizado.
- Se pasó a separar el agua del aceite esencial por decantación y el aceite esencial se agregó en una botella de color ámbar para ser almacenada a temperatura ambiente y en un lugar fresco.

Preparación del medio de cultivo PDA:

Se trabajó según lo acorde por (Holmes et al., 2004).

- En un Matraz Erlenmeyer se colocó 800 ml de agua destilada y 31,2 g de PDA.
- Se hizo hervir en una cocina eléctrica como agitar la solución, para luego ser tapados con algodón y papel aluminio.
- Se colocó en la autoclave a 15 PSI por un lapso de 15 minutos a 121 °C y se dejó reposar para llegar a una temperatura de 45 °C aproximadamente.
- Llegado la temperatura indicada, fuimos a la cabina de flujo laminar donde estaban 25 placas ya previamente esterilizados con rayos UV.
- Se sirvieron 30 ml aproximadamente de medio PDA por placa, se dejó solidificar en la cabina.
- Se sellaron las placas con para film y se guardó en una refrigeradora hasta su uso.

Toma de muestra y aislamiento de *Moniliophthora roreri*:

La toma de muestra y aislamiento de *Moniliophthora roreri* se realizó en el Caserío de LLuhuana, en el distrito de Copallín, provincia de Bagua, departamento de Amazonas, esta actividad fue de acorde a lo descrito por (Suárez, 2006).

- Se recolectaron las mazorcas de cacao que presentaron el hongo, estas fueron colocadas en sobres de manila y su traslado fue a temperatura ambiente.
- Las mazorcas se lavaron con hipoclorito de sodio al 2.5% durante tres minutos, de igual manera se lavó con alcohol al 70% por tres minutos.
- En la cabina de flujo laminar y con un bisturí esterilizado se cortó la piel de la mazorca dejando el mesocarpio infectado con el Fito patógeno a la vista.

- Con un sacabocado esterilizado se sacaron trozos del mesocarpio con el hongo y fueron puestos en medio PDA, en cada placa se colocaron cinco trozos.
- Se sellaron las placas con para film y se dejó en incubación por 10 días a 28°C.

Identificación de *Moniliophthora roreri*:

La metodología de tinción simple nos sirvió para la identificación de moniliasis en cacao y fue de acorde a lo descrito por (Suárez, 2004)

Se montó el microscópico, luego se pasó a colocar parte del micelio del hongo incubado sobre un portaobjeto y se añadió el colorante azul de lacto fenol, donde se observó la presencia de las estructuras morfológicas del agente infeccioso, como las esporas, hifas, conidios y luego fue cultivado por punto de hifa.

Preparación de medio de cultivo PDA con los extractos y aceites esenciales:

El medio de cultivo PDA junto con los extractos y aceites esenciales se preparó por el procedimiento de medio de cultivo envenenado descrito por (Ahmad et al., 2017).

- Los extractos y aceites esenciales se mezclaron con el medio PDA en 1:1 (V/V) para preparar los medios envenenados.
- En dos matraces Erlenmeyer de 250 ml se agregaron 120 ml de agua destilada y 4.68 gramos de PDA, se hizo hervir en una cocina eléctrica para posteriormente taparle con algodón y papel aluminio.
- Se cogió dos matraces de 250 ml, se agregaron 4,68 gramos de PDA, 6 ml de extracto vegetal o aceite esencial a cada matraz y 114 ml de agua destilada, se agitaron y colocaron en una cocina eléctrica hasta el punto de ebullición, para luego ser tapados con algodón y papel aluminio.
- En dos matraces de 250 ml se colocó 4,68 gramos de PDA, 12 ml del extracto vegetal o aceite esencial a cada matraz y 108 ml de agua destilada, para luego ser hervidos en una cocina eléctrica, fueron tapados con algodón y papel aluminio.
- Se cogieron dos matraces de 250 ml y se agregó 4,68 gramos de PDA, 18 ml del extracto vegetal o aceite esencial a cada matraz y 102 ml de agua destilada, posteriormente se hizo hervir en una cocina eléctrica, para ser tapados con algodón y papel aluminio.

- En dos matraces de 250 ml se agregaron 4,68 gramos de PDA, más 24 ml del extracto vegetal o el aceite esencial a cada matraz y 96 ml de agua destilada, luego se hizo hervir en una cocina eléctrica, para ser tapados con algodón y papel aluminio.
- Teniendo los cinco matraces de 250 ml con 0%, 5%, 10%, 15% y 20% de cada extracto vegetal y de cada aceite esencial, fueron colocadas en una autoclave a 15 PSI por un lapso de 15 minutos a una temperatura de 121 °C.
- En la cabina de flujo laminar con placas previamente esterilizadas con rayos UV, se sirvieron 20 ml aproximadamente a cada placa, fueron selladas con para film y envueltas en papel para finalmente colocarlos en una refrigeradora hasta su utilización.

Siembra del hongo en los medios de cultivo envenenado:

Para sembrar la moniliasis en las placas que contienen el medio PDA y extracto o aceite esencial, se realizó de acorde a lo descrito por (Fiori et al., 2000).

- Se cogieron las placas con puro PDA y que tengan las $\frac{3}{4}$ partes de Moniliasis (*Moniliophthora roreri*).
- En una cabina de flujo laminar y con un sacabocado de 7 mm previamente esterilizado se sacaron trozos del borde del hongo (hifas en crecimiento).
- Estos fueron colocados en el medio de cada placa con los diferentes medios de cultivos envenenados.
- Fueron selladas con para film cada placa para luego ser codificados y puestos a incubar a 28 grados.

Procedimiento de recolección de datos sobre el crecimiento radial y porcentaje de inhibición radial del hongo:

Para el crecimiento radial del hongo se trabajó de acorde a (Fioriet al., 2000).

- Las evaluaciones se iniciaron a las 24 h. después de que el experimento comenzó y termino cuando los dos tercios de las placas **T0** (testigo) se encontraron cubiertos por el hongo, esto se realizó con la ayuda de un vernier, por lo que estas evaluaciones se realizaron a la misma hora.

Para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento radial se aplicó la formula siguiente que fue descrito por (Nagendra et al., 2010).

$$\text{PIM} = \frac{(C - T)}{C} \times 100$$

Donde C es el diámetro de T0 y T es el de los tratados.

Procedimiento de recolección de datos sobre el porcentaje de inhibición de la esporulación:

Se trabajó según la metodología descrito por (Araújo et al., 2008)

- Se tomaron las colonias de cada tratamiento y se adicionó 10 ml de agua destilada estéril con Tween 80 al 0.1% y con ayuda de una espátula Drigalsky se removieron las esporas para ser agitados por un lapso de 60 segundos y con una cámara de Neubauer determinamos la concentración de esporas por mililitro.

Para calcular el porcentaje de inhibición de esporulación se utilizó la siguiente formula:

$$\text{PIE} = \frac{(C - T)}{C} \times 100$$

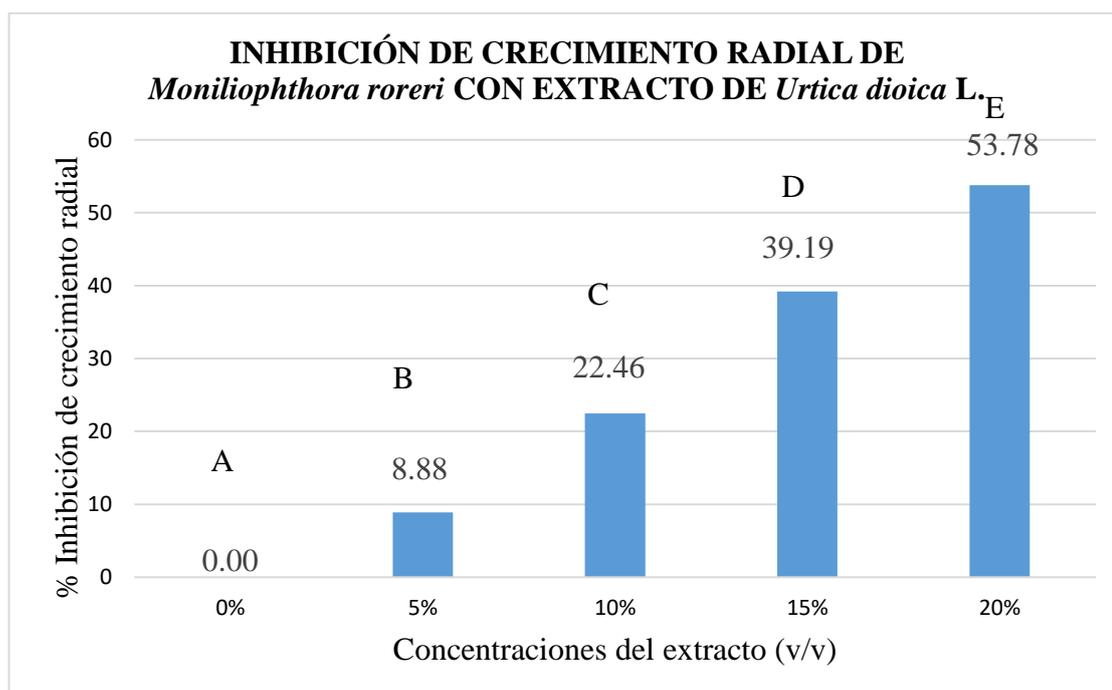
Donde C es la esporulación de la colonia del control y T es el de los tratados.

III. RESULTADOS

3.1. Inhibición del crecimiento radial con extracto de ortiga (*Urtica dioica* L.)

Figura 3

*Inhibición del crecimiento radial de *Moniliophthora roreri* bajo cinco concentraciones de extracto de *Urtica dioica* L.*



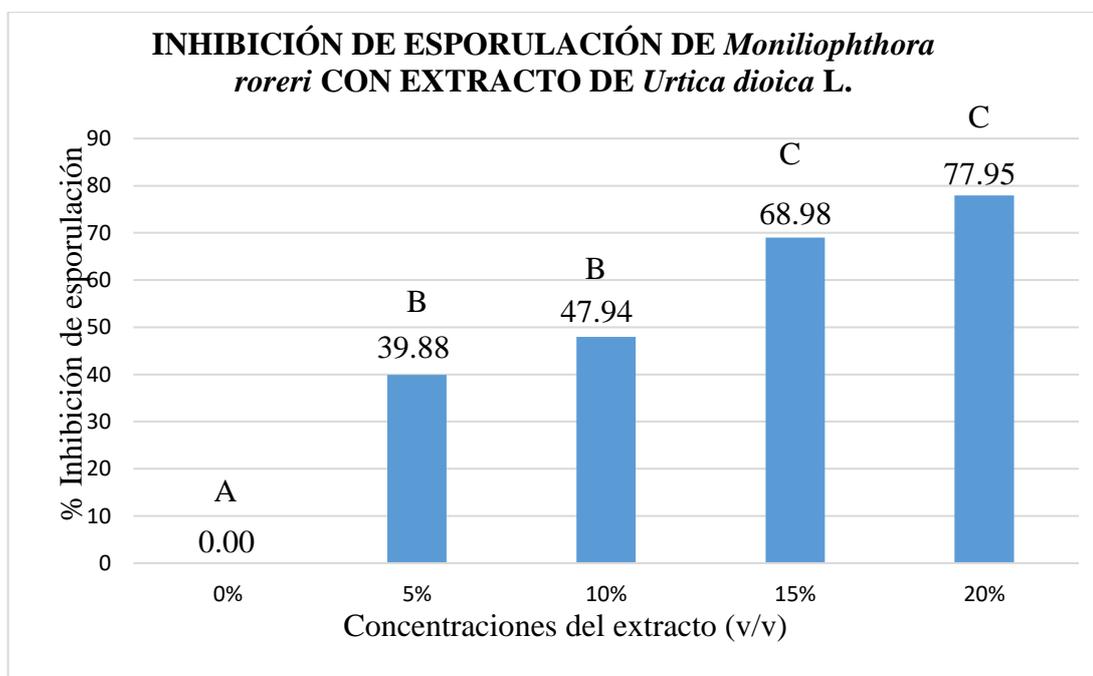
Fuente: Elaboración propia.

En la figura 03, se puede evidenciar que existen diferencias significativas en el porcentaje de inhibición del crecimiento radial con cada concentración utilizada del extracto de *Urtica dioica* L., según la prueba Tuckey $p < 0.05$; obteniendo cinco grupos estadísticos incluyendo al testigo, donde se observa que los grupos: B de 5% (v/v), el grupo C de 10% (v/v), el grupo D de 15% (v/v) y el grupo E de 20% (v/v), tienen diferencia significativa comparados al grupo A (testigo) de 0% (v/v), lo cual el grupo E de 20% tuvo un mayor porcentaje de inhibición del crecimiento radial en comparación al testigo.

3.2. Inhibición de esporulación con extracto de ortiga (*Urtica dioica* L.)

Figura 4

Inhibición de esporulación de Moniliophthora roreri bajo cinco concentraciones de extracto de Urtica dioica L



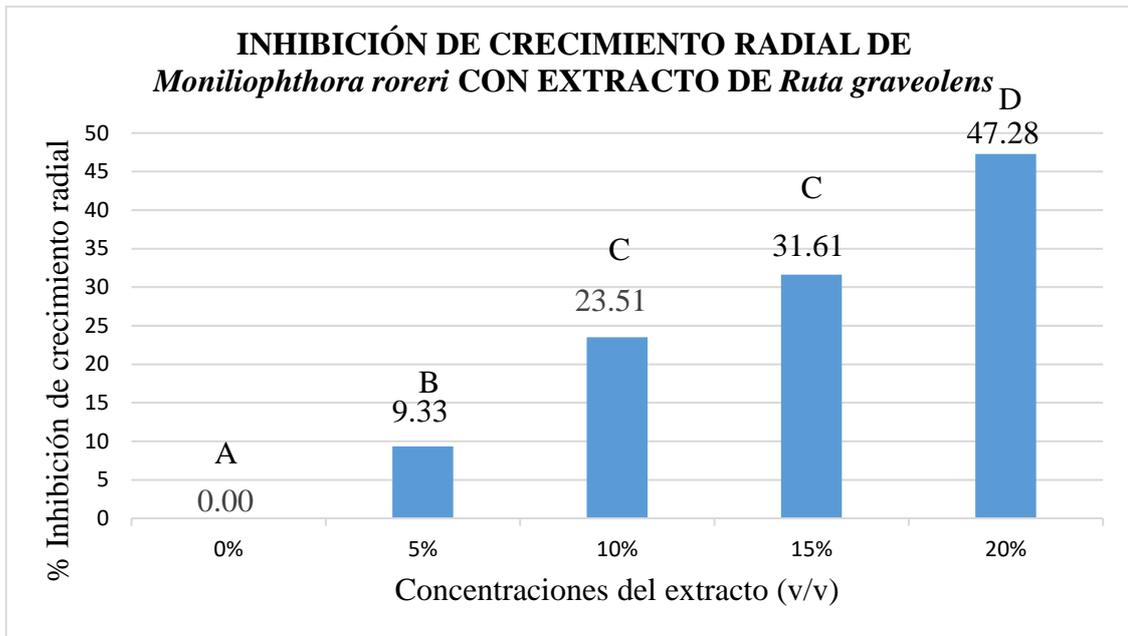
Fuente: Elaboración propia.

En la figura 04, se puede apreciar que existen tres grupos incluyendo al testigo en la que existen diferencias significativas en cuanto en la inhibición de esporulación con extracto de ortiga (*Urtica dioica* L.), dentro del grupo B se encuentran las concentraciones de 5% (v/v) y 10% (v/v), lo cual fue inferior al grupo C donde se encuentran las concentraciones de 15% (v/v) y de 20% (v/v), todas estas concentraciones fueron comparadas con el testigo que es el grupo A% (V/V).

3.3. Inhibición del crecimiento radial con extracto de ruda (*Ruta graveolens*)

Figura 5

Inhibición del crecimiento radial de Moniliophthora roreri bajo cinco concentraciones de extracto de Ruta graveolens.



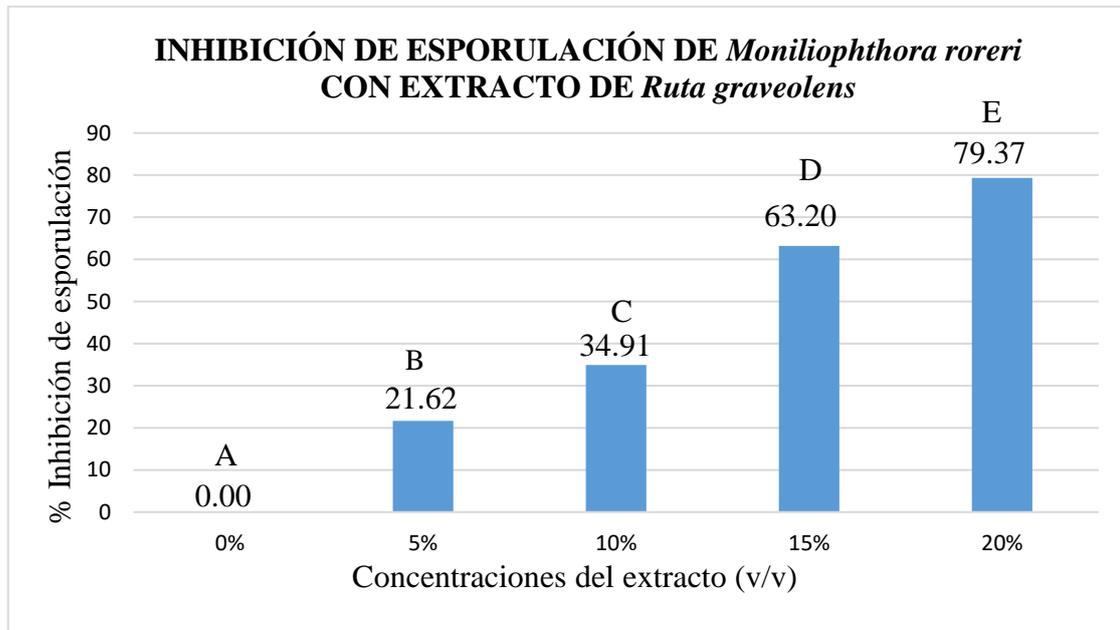
Fuente: Elaboración propia.

En la figura 05, se puede evidenciar que existen diferencias significativas en el crecimiento radial en las concentraciones utilizadas con el extracto de *Ruta graveolens*, según la prueba Tuckey $p < 0.05$; obteniendo cuatro grupos estadísticos incluyendo el testigo que es el grupo A de 0% (v/v), el grupo B de 5% (v/v) siendo el menor de todos, el grupo C de 10% (v/v) y 15% (v/v) de concentraciones no hubo diferencia significativa y por último el grupo D de 20% (v/v) que fue mayor a todos.

3.4. Inhibición de esporulación con extracto de ruda (*Ruta graveolens*)

Figura 6

Inhibición de esporulación de Moniliophthora roreri bajo cinco concentraciones de extracto de Ruta graveolens.



Fuente: Elaboración propia.

En la figura 06, según la prueba Tuckey $p < 0.05$ se puede apreciar que existen diferencias significativas con cada concentración utilizada del extracto de ruda (*Ruta graveolens*) comparados con el testigo; en la que el grupo B de 5% (v/v) es la que menos inhibió la esporulación y en la que se asemeja al grupo C de 10% (v/v), por otro lado la concentración del extracto de *Ruta graveolens* en la que tuvo mayor eficacia en inhibir la esporulación de *Moniliophthora roreri* fue del grupo E de 20 % (v/v).

3.5. Inhibición del crecimiento radial e inhibición de esporulación con aceite esencial de ortiga (*Urtica dioica* L.)

Durante la ejecución del proyecto se propuso extraer aceite esencial a través del método descrito por (Ventura, 2017). Sin embargo, se obtuvo cantidades mínimas de aceite esencial de ortiga, incluso después de 6 ciclos de extracción, con aumento de horas (6h, 9h y 12h), la cantidad extraída fue mínima para realizar los experimentos.

3.6. Inhibición del crecimiento radial e inhibición de esporulación con aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*).

Para el presente proyecto se propuso trabajar por el método de medio de cultivo envenenado descrito por (Ahmad et al., 2017), sin embargo, las dosis utilizadas en el proyecto fueron muy elevadas, ya que no se observó la presencia del crecimiento radial de *Moniliophthora roreri*, por ende, no se pudo realizar las evaluaciones tanto en el porcentaje de inhibición del crecimiento radial como en la inhibición de esporulación.

IV. DISCUSIÓN

Está evidenciado que el extracto de *Urtica dioica* L. inhibió el crecimiento radial de *M. roreri*, el efecto del extracto de ortiga contra enfermedades Fito patógenas se puede corroborar con la investigación de (Villacís et al., 2017) ya que nos menciona que el extracto de *Urtica dioica* L. (1ml) tuvo un efecto *invitro* del 12.94% sobre el crecimiento radial de *Colletotrichum acutatum* una enfermedad del tomate de árbol.

En este trabajo se encontraron diferencias significativas en los 5 tratamientos, con una concentración del 20% v/v de extracto de *Urtica dioica* L. logró la mayor inhibición del 53.8% comparado con el testigo, esto se puede apoyar con la investigación de (Freire, 2017), donde nos menciona que el extracto de *Urtica dioica* L. preparado al 50% v/v logró inhibir el crecimiento radial en un 69.70 % de monilia (*Moniliophthora roreri*), esto se debe a que detienen la esporulación y germinación de las esporas del hongo por su acción fúngica.

El método de extracto de *Urtica dioica* L. también se puede corroborar con la investigación desarrollado por (Guerrero et al., 2020), en la que también se observaron que los extractos de *A. bleado*, *T. minuta*, *E. hirtay*, *P. oleracea* y *S. dulcis* mostraron disminución en el crecimiento radial de (*Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora palmivora*) a concentraciones de 10%, 20% y 30%.

Araujo Castro y Guaminga (2022) nos menciona que en el extracto acuoso de ortiga se encuentran presentes carbohidratos, alcaloides, saponinas y flavonoides, de la misma manera nos menciona que los componentes como saponinas, taninos, flavonoides, fenoles y alcaloides, estos desempeñan un papel importante en la actividad antimicrobiana.

De la misma manera en este trabajo de investigación se pudo encontrar que el extracto de ruda (*Ruta graveolens*) controló la inhibición del crecimiento radial de moniliasis (*Moniliophthora roreri*), para corroborar en la inhibición de una enfermedad Fito patógena con el extracto de ruda tenemos la investigación de (Lima et al., 2015), lo cual nos menciona que el extracto de *Ruta graveolens* demostró resultados positivos en la inhibición del crecimiento micelial en tizón tardío en arroz (*Magnaporthe oryzae*), donde utilizaron concentraciones de 0.5 mg/ml hasta 7.0 mg/ml, donde las dosis más altas redujeron el crecimiento micelial en más del 90%.

En esta investigación se pudo encontrar diferencias significativas en 4 de los 5 tratamientos, donde la concentración al 20% v/v inhibió un 47.28%, siendo este la mayor inhibición en el crecimiento micelial, este resultado podemos corroborar con la investigación de (Arcos et al., 2019), donde nos mencionan que el extracto de ruda a una concentración del 25% v/v inhibió el crecimiento micelial en un 57% de *Moniliophthora roreri*.

En la investigación de (Jaramillo, 2022), nos menciona que los extractos acuosos de *Allium Sativum L.* y *Capsicum spp.* preparados al 30% y 20% respectivamente tuvieron mayor impacto para inhibir el crecimiento micelial de *Moniliophthora roreri*. Oliva et al., (2003) nos menciona que los extractos de las hojas de *Ruta graveolens* con acetato de etilo se produce dos furanocumarinas, un alcaloide de quinolina y cuatro alcaloides de quinalona, en la cual estos compuestos tuvieron una actividad moderada en *Colletotrichum acutatum* (resistente al benomilo), *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* y *Phomosis vitícola*.

De esta manera se pudo demostrar que *Urtica dioica L.* y *Ruta graveolens* pudo inhibir en el crecimiento *invitro* radial de *Moniliophthora roreri* de *Theobroma cacao*, sin embargo, esto puede tener algunos efectos en cuanto a las concentraciones de los extractos, ya que algunas plantas tienen más metabolitos que otras, incluso el efecto varía de acuerdo a la parte de la planta que se utilice (Ramirez, 2021).

Los extractos de ciertas plantas también pueden inhibir la esporulación de ciertos hongos Fito patógenos, se puede corroborar con la investigación de (Xoca et al., 2022), donde nos menciona que utilizaron el extracto de muérdago mexicano (*Psittacanthus calyculatus*) a concentración de 15 mg/ml resultando una reducción de la esporulación de *Colletotrichum gloesporoides*, *Curvularia sp* y *Fusarium sp*.

En este trabajo, el extracto de *Urtica dioica L.* a concentraciones de 15% y 20% no hubo diferencia significativa, inhibiendo la esporulación en un 69.98% y 77.95% respectivamente, el trabajo con *Ruta graveolens* también inhibió la esporulación de *Moniliophthora roreri*, la concentración utilizada a un 20% inhibió en un 79.37%, existe un gran número de reportes donde se muestra un efecto similar provocado por extractos de otras especies sobre un gran número de patógenos.

Cortés et al., (2021), nos menciona que el extracto acuoso del mesocarpio de coco (*Cocos nucifera L.*) concentrado a un 10% inhibe la esporulación de *Rhizophus*

stolonifer en un 94%. (Aguilar et al., 2022), también nos menciona que el extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. y *Psidium guajava* L. tienen la capacidad de inhibir la esporulación en un 99.45% y 83.83% respectivamente, en el caso de *Carica papaya* fue muy baja con un 46.89%, pero los extractos de *Bougainvillea spp. L.*, *Dysphania ambrosioides L.*, *Mangifera indica L.*, y *Pimenta dioica L.* tuvieron una inhibición de esporulación del 100%.

Para la presente investigación también se tomó en cuenta trabajar con aceites esenciales de *Ruta graveolens* y ortiga *Urtica dioica*, en el caso de la ruda se utilizaron concentraciones de 0% v/v (testigo), 5% v/v, 10% v/v, 15% v/v y 20% v/v, en la que fueron concentraciones muy altas, donde se observaron que inhibieron el crecimiento total de *Moniliophthora roreri* a excepto del testigo.

Aouadhi et al, (2013) cual nos menciona que el aceite esencial de *Ruta chalepensis* a concentraciones de 1.6% v/v, 0.8% v/v y 0.8%v/v fueron las concentraciones mínimas para inhibir el crecimiento total de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* y *Candida albicans* respectivamente. Haddouchi et al, (2013) el aceite esencial de *Ruta graveolens* concentrado al 1% v/v inhibe el crecimiento micelial de *Alternaria alternaria* (25%), *Fusarium oxysporum* (20%), *Aspergillus flavus* (22%), *Candida albicans* (33%), *Aspergillus fumigatus* (15%) y *Cladosporium herbarum* (25%).

En el caso del aceite esencial de *Urtica dioica* L. fue complicado conseguirlo en altas cantidades, esto se puede corroborar con la investigación de (Delgado, 2021) donde nos menciona que trabajó con 5 kg de ortiga por el método destilación por arrastre de vapor y no pudo obtener aceite esencial como tal, pero si obtuvo hidrolatos en mínimas cantidades. Petkova et al, (2020) obtuvo aceite esencial de semillas de ortiga mediante el proceso de prensado frío, siendo imposible obtener dicho aceite esencial para este proyecto ya que no se pudo encontrar dicha maquina en la universidad.

Moghaddam y Mehdizadeh (2016), nos dice que los aceites esenciales contienen diferentes tipos de moléculas volátiles como terpenos y terpenoides, componentes aromáticos y alifáticos derivados del fenol, en la cual son responsables de su modo de acción anti fúngica. Incluso nos menciona que la propiedad anti fúngica de los aceites esenciales de plantas se debe a su naturaleza lipófila quien es el responsable de la ruptura de la membrana plasmática causando alteraciones morfológicas en el hongo.

V. CONCLUSIONES

El extracto de ortiga se comportó de una manera positiva para controlar la inhibición del crecimiento radial de la moniliasis, ya que todas las concentraciones utilizadas tuvieron efecto para controlar la inhibición de crecimiento radial, la inhibición más alta fue de un 53,784% encontrado a una concentración del 20%.

El extracto de ortiga tuvo un comportamiento positivo para inhibir la esporulación de moniliasis, utilizando concentraciones del 15% y 20% en la que no se encontró diferencia significativa se inhibió en un 68,98% y 77,95% respectivamente.

La inhibición del crecimiento radial de moniliasis con el extracto de ruda tuvo un impacto positivo, donde la concentración al 20% fue lo que causó mayor efecto en la inhibición de crecimiento radial con un 47,28%.

El extracto de ruda inhibió de una manera positiva en la esporulación de moniliasis, ya que todas las concentraciones si tuvieron efecto, siendo la concentración de un 20% la que mayor inhibió en un 79,37%.

El efecto del aceite esencial de ruda actúa de una manera positiva, ya que a concentraciones mayores del 5% v/v inhiben el crecimiento y la esporulación en su totalidad.

La obtención del aceite esencial de ortiga, se nos fue muy difícil por el método de destilado por arrastre a vapor, ya que las cantidades que se obtenía eran bien mínimas lo cual nos dificultaba el proceso de decantación.

VI. RECOMENDACIONES

- Teniendo conocimientos que los extractos y aceites esenciales de ruda y ortiga tuvieron efecto sobre el crecimiento de moniliasis, realizar un análisis de espectrofotometría para poder cuantificar los metabolitos que actúan sobre la moniliasis.
- Realizar aplicaciones en campo de los extractos y aceites esenciales, para así poder corroborar con su efectividad de nivel de laboratorio.
- Evaluar la muerte de moniliasis por horas con aceite esencial de ruda, ya que las concentraciones mayores al 5% inhiben el crecimiento total.
- Utilizar diferentes tipos de solventes y especies vegetales para realizar extractos y/o aceites esenciales, para ser utilizadas contra enfermedades Fito patógenas.
- Emplear concentraciones más altas con los extractos y concentraciones más bajas con el aceite esencial de ruda.
- Realizar combinaciones del extracto de ortiga y ruda a diferentes concentraciones, para poder observar su acción contra moniliasis.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acebo Guerrero, Y., Hernández Rodríguez, A., Heydrich Pérez, M., El Jaziri, M., & Hernández Lauzardo, A. (2012). Management of black pod rot in cacao (*Theobroma cacao* L.): a review. *EDP Sciences*, 67(1), 41-48. doi:10.1051/fruits/2011065
- Acosta, S., & Villa, J. (2016). Evaluación de *Trichoderma* como control Biológico en una Plantación a pequeña escala de cacao. *Journal of Agriculture and Animal Sciences*, 5(2), 8-18. doi:10.22507/jals.v5n2a1
- Aguilar Pérez, D. A., Ramírez González, S. I., López Báez, O., & Prieto Méndez, J. (2022). In vitro control of anthracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) isolated from annona muricata l. with vegetable extracts. *Innovación más Desarrollo*, XI(31), 36-53. doi:Innovación más Desarrollo
- Ahmad, F., Raziq, F., Ullah, N., Khan, H., & Din, N. (2017). In vitro and in vivo bio-assay of phytobiocidal effect of plant extracts on *Alternaria solani* causing agent of early blight disease in tomato. *Phytopathology and Plant Protection*, 1-16. doi:org/10.1080/03235408.2017.1352247
- Aouadhi, C., Ghazghazi, H., Hamrouni, S., Hasnaoui, B., & Maaroufi, A. (2013). In vitro antifungal activity of the essential oil and the methanolic extract of *Ruta chalepensis*. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 39-46. Obtenido de <https://www.researchgate.net/publication/266675392>
- Araujo Castro, R. M., & Guaminga Chucursi, S. G. (2022). *Estudio bibliográfico comparativo de la eficacia de extractos a base urtica dioica como antibacterianos*. Guayaquil: Universidad de Guayaquil.
- Araújo, D., Rodríguez, D., & Sanabria, M. (2008). Respuesta del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, causante del mal de Panamá, a algunos extractos vegetales y fungicidas. *Fitopatología Venezolana*, 1(1), 2-8.
- Arcos Méndez, M. C., Martínez Bolaños, L., Ortiz Gil, G., Martínez Bolaños, M., & Avendaño Arrazate, C. H. (2019). Efecto in vitro de extractos vegetales contra la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Agricultura Tropical*, V(1), 19-24.

- Bailey, B. A., Evans, H. C., Mora, W. P., Ali, S. S., & Meinhardt, L. W. (2018). *Moniliophthora roreri*, causal agent of cacao frosty pod rot. *Molecular Plant Pathology*, 19(7), 1580–1594 . doi:10.1111/mpp.12648
- Coronel Velarde, J. J., Pillaca Gamarra, L., Vasquez Huanca, V. E., & Vilchez Huatangari, E. J. (2021). *Plan de exportación de cacao orgánico tostado*. Bachiller en Administración de Negocios Internacionales, Universidad Científica Del Sur, Lima.
- Cortés-Rivera, H. J., Gonzáles-Estrada, R. R., Huerta-Ocampo, J. Á., Blancas Benítez, F. J., & Gutiérrez-Martínez, P. (2021). Evaluación de quitosano comercial y extractos acuosos de mesocarpio de coco (*Cocos nucifera L.*) para el control de *Rhizopus stolonifer* aislado de guanábana (*Annona muricata L.*): Pruebas in vitro. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, XXIV(1), 1-11. doi: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.0.293>
- Delgado Canales, C. C. (2021). *Caracterización fisicoquímica del aceite esencial extraído de hojas de Urtica dioica (ortiga) proveniente de la región junín, 2021*. Lima: Universidad María Auxiliadora.
- Evans, H. C. (2007). Cacao Diseases: The Trilogy Revisited. *American Phytopathological Society*, 97(12), 1640-1643. doi:10.1094/PHYTO-97-12-1640
- Fiori, A., Schwam Estrada, K., Stangarlin, J., Vida, J., Scapim, C., Cruz, M., & Pascholati, S. (2000). Antifungal Activity of Leaf Extracts and Essential Oils of some Medicinal Plants against *Didymella bryoniae*. *Journal of Phytopathology*, 483-487.
- Freire Segura , K. S. (2017). *Uso de dos métodos de extracción fitoquímicos a base de Jengibre (Zingiber officinale L.), Oreganón (Plectranthus amboinicus) y Ortiga (Urtica dioica), para el control in vitro de la monilla (Moniliophthora roreri Cif & Par)*. Quevedo: Universidad Técnica Estatal De Quevedo.
- Freire Segura, K. S. (2017). *Uso de dos métodos de extracción fitoquímicos a base de Jengibre (Zingiber officinale L.), Oreganón (Plectranthus amboinicus) y Ortiga (Urtica dioica), para el control in vitro de la monilla (Moniliophthora roreri Cif & Par)*.

- Guerrero, R., Risco, G., Cevallos, O., Villamar, R., & Peñaherrera, S. (2020). Extractos vegetales: una alternativa para el control de enfermedades en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*). *Revista Ingeniería e Innovación*, 1-13.
- Gurjar, M. S., Ali, S., Akthar, M., & Singh, K. S. (2012). Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agricultural Sciences*, 03(03), 425-433. doi:10.4236/as.2012.33050
- Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Zaouali, Y., Ksouri, R., Attou, A., & Benmansour, A. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta species* growing in Algeria. *Food Chemistry*, 253-258.
- Holmes, k., Schroers, H. J., Thomas, S., Evans, H., & Samuels, G. (2004). Taxonomy and biocontrol potential of a new species of *Trichoderma* from the Amazon Basin of South America. *Mycological Progress*, 3(2), 199-210.
- Jaramillo Aguilar, Y. V. (2022). *Evaluación de extractos acuosos de aji y ajo sobre el crecimiento micelial de moniliophthora roreri a nivel in vitro*. Machala: Universidad Técnica Machala.
- Lima Arruda, R., Lima García, M., Barros Cortes, M. V., Corsi de Filippi, M. C., & Cardoso da Conceicao, E. (2015). Use of *Ruta graveolens* L. Vegetable Extract Standardised by Furanocoumarin Content to Control Magnapor the oryzae in Rice Plants. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, III(9), 94-103.
- Martín Vasallo, C. V., Pérez Rodríguez, Y., Castellanos González, L., & Soto González, B. (2017). Effectiveness of vegetable extracts for the control of *Praticolella griseola* (Pfeiffer) (Gastropoda: Polygyridae). *Centro Agrícola*, 44(2), 68-74.
- Moghaddam, M., & Mehdizadeh, L. (2016). Essential Oil and Antifungal Therapy. En A. Basak, R. Chakraborty, & S. Mandal, *Recent Trends in Antifungal Agents and Antifungal Therapy* (págs. 29-74). Mashhad, Iran: Springer India. doi:DOI 10.1007/978-81-322-2782-3_2
- Nagendra, M., Shankara, S., & Sreenivasa, M. (2010). Antifungal activity of essential oils against *Phomopsis azadirachtae* the causative agent of die kack disease of neem. *Journal of Agricultural Technology*, 11(6), 127-133. Obtenido de <http://www.ijat-rmutto.com>

- Oliva, A., Meepagala, K., Wedge, D., Harries, D., Hale, A., Aliotta, G., & Duke, S. (2003). Natural Fungicides from *Ruta graveolens* L. Leaves, Including a New Quinolone Alkaloid. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, *LI*(4), 890-896. doi:10.1021/jf0259361
- Petkova, Z. Y., Antova, G. A., & Angelova-Romova, M. A. (2020). Biologically active components and health benefits of nettle seed oil. *GRASAS Y ACEITES*, *71*(1), e341. doi:https://doi.org/10.3989/gya.0108191
- Ploetz, R. (2016). The Impact of Diseases on Cacao Production: A Global Overview. En B. Bailey, & L. Meinhardt, *Cacao Diseases* (págs. 33-59). Springer, Cham. doi:10.1007/978-3-319-24789-2_2
- Ramirez Quispe, N. F. (2021). *Formulación de extractos vegetales para el control de enfermedades agrícolas*. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Roshinus Tsufac, A., Princely Awazi, N., & Kfuban Yerima, B. (2020). Determinants and Policy Ramifications of Cocoa Farmers' Use of Agrochemicals in Cocoa-Based (*Theobroma cacao*) Agroforestry Systems in Cameroon. *Journal of Experimental Agriculture International*, *42*(10), 26-37. doi:10.9734/jeai/2020/v42i1030611
- Soylu, M. E., Soyly, S., & Kurt, S. (2006). Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight discase agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*, *161*(2), 119-128. doi:10.1007/s11046-005-0206-z.
- Suárez Contreras, L. (2004). *Aislamiento e identificación del hongo Moniliophthora roreri a partir de cultivos de cacao ubicados en Norte de Santander-Colombia*. Tesis de doctorado, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.
- Suárez Contreras, L. Y. (2006). Aislamiento e identificación de *Moniliophthora roreri* causante de la moniliasis en municipios del nororiente colombiano y ensayos preliminares para su control biológico. *Respuestas*, *11*(1), 3-8. doi:org/10.22463/0122820X.623
- Ventura, A. (2017). *Comparación de tres métodos en la extraciión de aceite esencial de orégano silvestre (Lippia sp.)*. Tesis pregrado, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, Chachapoyas.

- Vicente, L. P. (2018). *Moniliophthora roreri* H.C. Evans et al. and *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime: impact, symptoms, diagnosis, epidemiology and management . *Revista Protección Vegetal*, 33(1), 1-13.
- Villacís Aldaz, L. A., León Gordon, O., Santana Mayorga, R., Mangui Tobar, J., Carranza Galo, & Pazmiño Miranda, P. (2017). Antifungal (*in vitro*) activity of plant extracts for the control of anthracnose (*Colletotrichum acutatum*). *JOURNAL OF THE Selva Andina Biosphere*, V(1), 59-64.
- Villamil Carvajal, J. E., Blanco Valbuena, J. O., & Vitero Rosero, S. E. (2012). In vitro evaluation of Native Microorganisms for their Antagonism against *Moniliophthora roreri* Cif & Parin Cocoa (*Theobroma cacao L.*). *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín*, 65(1), 6305-6315. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179924340002>
- Xoca-Orozco, L. A., Cortez-Fonseca, K., Luna-López, C., Hernández-Mendoza, G., Flores-Sierra, J. J., Chacón-López, M. A., & Aguilera-Aguirre, S. (2022). In vitro inhibition of phytopathogenic fungi using extracts of Mexican mistletoe (*Psittacanthus calyculatus*). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, IX(3), 2-12. doi:<https://doi.org/10.19136/era.a9n3.3431>

ANEXOS

ANEXOS 1. Análisis de varianza

Tabla 4

Inhibición del crecimiento radial con extracto de Urtica dioica contra Moniliasis

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9606,278	4	2401,569	231.653	<0.0001
Concentración	9606,278	4	2401,569	231.653	<0.0001
Error	207.342	20	10,367		
Total	9813,620	24			

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5

Inhibición de esporulación con extracto de Urtica dioica contra Moniliasis

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	18506.46	4	4626.61	138.27	<0.0001
Concentración	18506.46	4	4626.61	138.27	<0.0001
Error	669.24	20	33.46		
Total	19175.7	24			

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 6

Inhibición de crecimiento radial con extracto de Ruta graveolens contra Moniliasis

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6888,472	4	1722,118	77,561	<0.0001
Concentración	6888,472	4	1722,118	77,561	<0.0001
Error	444,065	20	22,203		
Total	7332,537	24			

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 7

Inhibición de esporulación con extracto de Ruta graveolens contra Moniliasis

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	20256.85	4	5064.21	523.88	<0.0001
Concentración	20256.85	4	5064.21	523.88	<0.0001
Error	193.33	20	9.67		
Total	20450.18	24			

Fuente: Elaboración propia.

ANEXOS 2. Panel fotográfico.

Figura 7

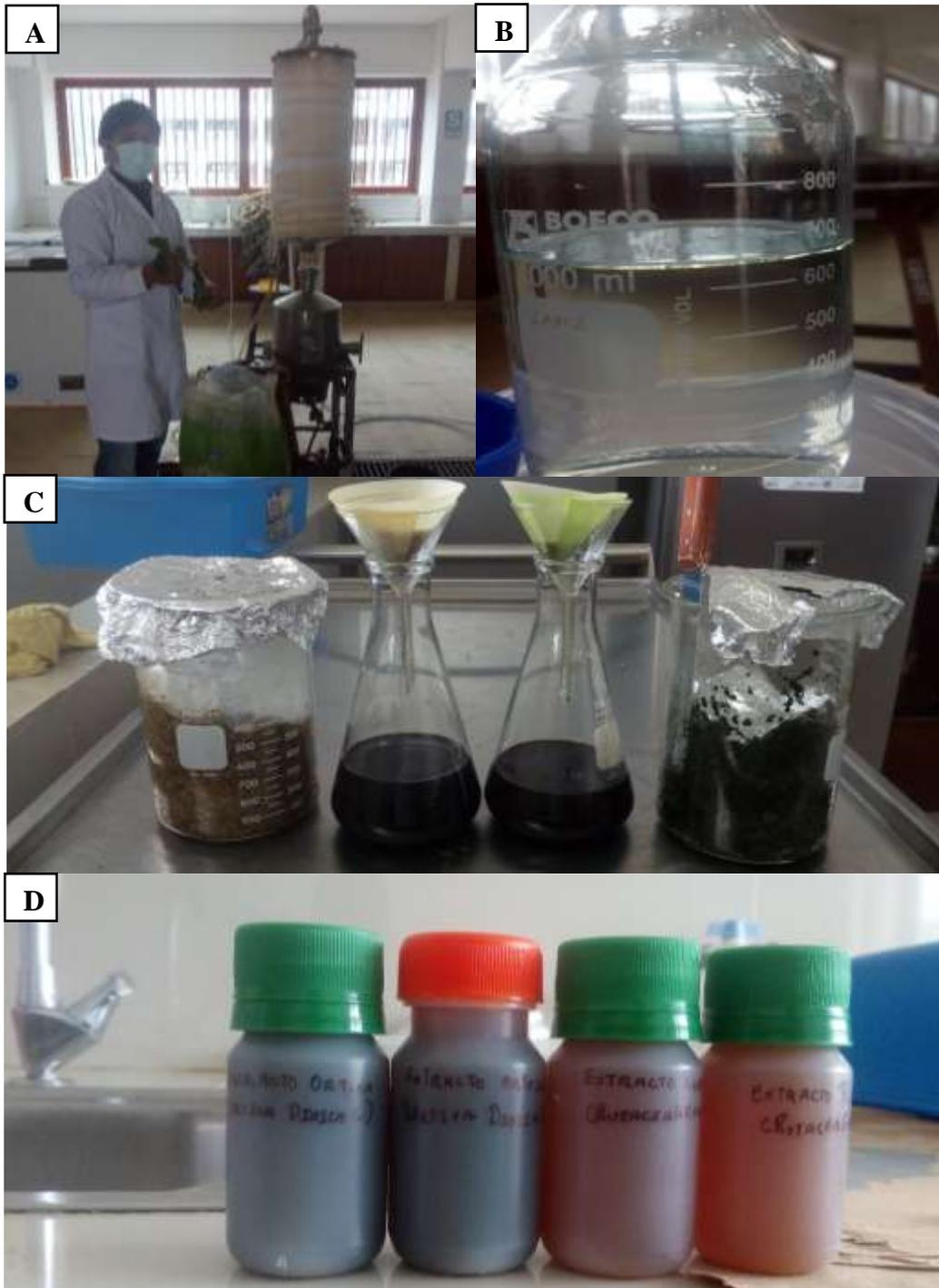
Recolección de Moniliasis en mazorcas de cacao



(A) Fuente de inóculo; (B) Traslado de inóculo; (C) Materiales para aislamiento; (D) Siembra de patógeno en PDA; (E) Crecimiento del patógeno; (F) Repique del patógeno.

Figura 8

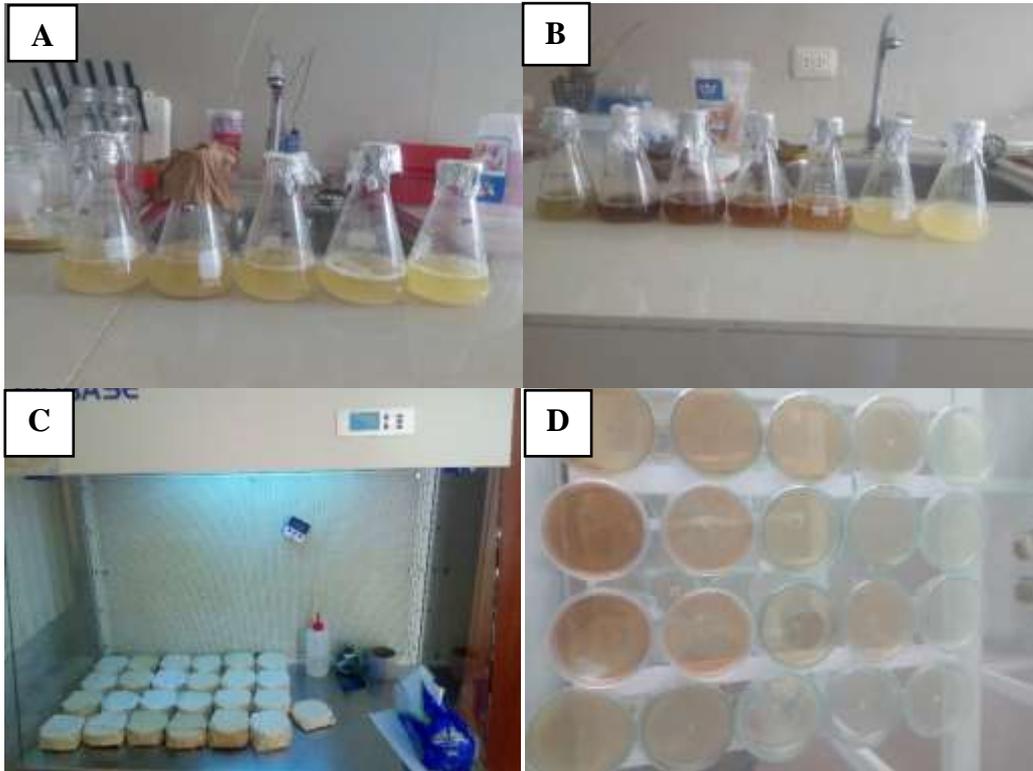
Preparado de extractos y destilado de aceites esenciales



(A) Equipo de destilado por arrastre a vapor; (B) Obtención de aceite esencial; (C) Obtención de extractos; (D) Extractos listos para guardar y utilizar.

Figura 9

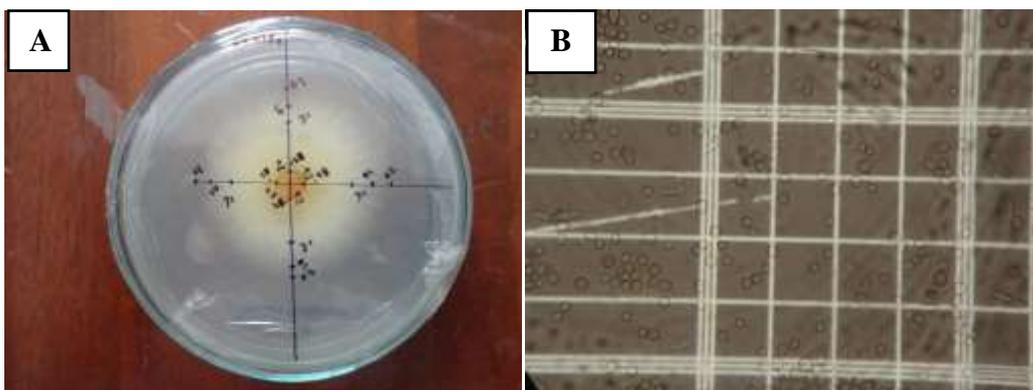
Preparado de medio de cultivo PDA más extracto o aceite esencial



(A) PDA con aceite esencial; (B) PDA con extractos; (C) Materiales para servir medio; (D) Placas con medio de cultivo PDA más extracto y/o aceite esencial.

Figura 10

Evaluación de los medios de cultivo PDA con extracto o aceite esencial



(A) Placa con presencia de crecimiento radial; (B) Cámara Neubauer con esporas