

Potencial antifúngico in vitro de extractos de ortiga (*Urtica dioica* L.) y ruda (*Ruta graveolens* L.) en la inhibición del crecimiento y esporulación de la moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*)

In vitro antifungal potential of extracts of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) and rue (*Ruta graveolens* L.) in inhibiting the growth and sporulation of cocoa moniliasis (*Moniliophthora roreri*)

Carlos Enrique Torrejon-Tafur¹ , Santos Triunfo Leiva-Espinoza^{1,2*} 

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto in vitro de los extractos y aceites esenciales de ortiga (*Urtica dioica* L.) y ruda (*Ruta graveolens* L.) sobre *Moniliophthora roreri*, agente causal de la “moniliasis del cacao”. Los aceites esenciales se obtuvieron con el método de destilación por arrastre de vapor y los extractos mediante maceración. Para evaluar las variables inhibición del crecimiento radial y esporulación, se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) en un medio de cultivo PDA incubado a 28 °C, con cinco tratamientos de cinco repeticiones incluyendo un testigo, cada tratamiento evaluó cinco concentraciones (0%, 5%, 10%, 15% y 20% v/v). Se realizó un análisis de varianza (ANVA) al 5% y una prueba de comparación múltiple de Tukey ($\alpha = 0,05$) para establecer las diferencias específicas entre medias. Los resultados mostraron que los extractos de ortiga al 20% inhibieron el crecimiento radial en 53,78%, y la esporulación en 77,95%, mientras que la ruda al 20% inhibió el crecimiento radial en 47,28% y la esporulación en 79,37%. Se concluye que los extractos de ortiga y ruda muestran potencial para controlar la moniliasis del cacao.

Palabras clave: *Moniliophthora roreri*, antifúngico, extractos vegetales, *Urtica dioica*, *Ruta graveolens*.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the in vitro effect of extracts and essential oils from stinging nettle (*Urtica dioica* L.) and rue (*Ruta graveolens* L.) on *Moniliophthora roreri*, the causal agent of “cocoa moniliasis.” The essential oils were obtained by steam distillation, and the extracts by maceration. To evaluate the variables of radial growth inhibition and sporulation, a completely randomized design (CRD) was used in a PDA culture medium incubated at 28 °C, with five treatments of five replicates, including a control. Each treatment evaluated five concentrations (0%, 5%, 10%, 15%, and 20% v/v). An analysis of variance (ANOVA) at the 5% level and a Tukey multiple-comparison test ($\alpha = 0.05$) were performed to identify specific differences between means. The results showed that 20% nettle extracts inhibited radial growth by 53.78% and sporulation by 77.95%, while 20% rue extracts inhibited radial growth by 47.28% and sporulation by 79.37%. It is concluded that nettle and rue extracts have the potential to control moniliasis in cocoa.

Keywords: *Moniliophthora roreri*, antifungal, plant extracts, *Urtica dioica*, *Ruta graveolens*.

¹Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias (FICA), Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, 342 Higos Urco, Chachapoyas 01001, Perú.

²Grupo de investigación en procesos en sanidad vegetal, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, 342 Higos Urco, Chachapoyas 01001, Perú.

*Autor de correspondencia. E-mail: santos.leiva@untrm.edu.pe

I. INTRODUCCIÓN

La producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) alimenta a toda una industria de la que forman parte agricultores, cooperativas, exportadores, comerciantes, fabricantes, marcas, minoristas, instituciones financieras y representantes gubernamentales de más de 75 países en todo el mundo. Generando beneficios económicos, sociales y culturales que son potenciados si se realiza mediante procedimientos respetuosos con el medio ambiente (Tennhardt et al., 2022). El Perú es considerado uno de los principales productores de cacao orgánico a nivel mundial y reconocido por la calidad excepcional de sus variedades nativas de cacao fino de aroma (Cortez et al., 2024), con características únicas en Amazonas y el mundo, siendo acreedor a la denominación de origen: El “Cacao Amazonas Perú” (INDECOPI, 2016).

Por la vital trascendencia del cacao, crece la preocupación respecto a las amenazas persistentes que afectan el rendimiento y comprometen su sostenibilidad, siendo las enfermedades fúngicas una de las principales preocupaciones para los productores de cacao (Adeniran et al., 2024; Asitoakor et al., 2024; Thube et al., 2024). Entre las más dañinas se encuentra la podredumbre helada de la mazorca, también conocida como “moniliasis del cacao” causada por *Moniliophthora roreri* (Moura et al., 2025), que destaca por su agresividad y alta capacidad destructiva.

M. roreri es un hongo fitopatógeno hemibiotrófico de origen neotropical que co-evolucionó con *Theobroma gileri* (Thomas et al., 2008), hospedero ancestral en los bosques submontanos del noroeste andino (Evans, 2007). Este patógeno ha extendido su rango geográfico a lo largo de América Central y América del Sur, siendo reportado en múltiples países productores de cacao (Cubillos, 2017) incluyendo el Perú, donde fue documentada por primera vez en 1988 en la provincia de Bagua Grande, Amazonas, y desde entonces se ha diseminado ampliamente por las principales zonas cacaoteras del país (Ploetz, 2016).

La infección por *M. roreri* puede afectar a las mazorcas

en cualquier etapa de desarrollo, manifestándose inicialmente de forma asintomática durante un periodo de incubación que puede superar los 30 días (Alves da Silva et al., 2022). Posteriormente, aparecen lesiones necróticas, pudrición interna del grano y la formación de una capa blanquecina de esporulación superficial que da lugar a la momificación de la mazorca (Bailey et al., 2018). Esta enfermedad puede causar pérdidas de hasta el 90% del rendimiento, dependiendo de factores como la zona geográfica, las condiciones climáticas y las prácticas de manejo (Krauss et al., 2010). Causando en nuestro país pérdidas en la producción que oscilan entre el 16% y el 80% según la región (Carvajal et al., 2012), afectando especialmente a regiones como San Martín, Amazonas, Junín, Ayacucho, Cajamarca, Ucayali y Cusco.

Como respuesta a tales pérdidas, el uso de fungicidas químicos ha sido una estrategia común para el control de estas enfermedades. Sin embargo, el uso prolongado e intensivo de estos insumos no solo favorece la aparición de cepas resistentes, sino que también incrementa la carga de contaminantes en el agroecosistema, lo que repercute negativamente en la salud humana y en el medio ambiente (Acosta y Villa, 2016; Tsufac et al., 2020). Frente a esta situación, existe una creciente necesidad de implementar estrategias de manejo fitosanitario más sostenibles, seguras y eficaces, que estén alineadas con los principios de la agricultura orgánica.

En este escenario, el uso de extractos y aceites esenciales de origen vegetal ha emergido como una alternativa prometedora. Diversas especies vegetales producen compuestos bioactivos, como fenoles, flavonoides, taninos, cumarinas, quinonas y ácidos fenólicos, que han demostrado actividad antimicrobiana contra un amplio espectro de fitopatógenos (Adnew et al., 2022; Akrofi et al., 2015; Gurjar et al., 2012). De igual forma, los aceites esenciales presentan propiedades antimicrobianas y antifúngicas, siendo además biodegradables, ambientalmente seguros y libres de residuos tóxicos (Abd-Elgawad et al., 2020; Ali et al., 2021;

Benabdesslem et al., 2022). Estas propiedades los convierten en herramientas potencialmente valiosas para el manejo integrado de enfermedades.

Las especies de ortiga y ruda han despertado interés por su valiosa composición fitoquímica. Ambas plantas han sido utilizadas tradicionalmente con fines medicinales y antimicrobianos (Alimoddin et al., 2024; Bhardwaj et al., 2024), y estudios recientes sugieren que sus extractos y aceites esenciales poseen actividad fungicida contra diversos patógenos agrícolas (Piloza et al., 2024; Yeo et al., 2023; Khetabi et al., 2022; Camiletti et al., 2016). Su uso podría representar una solución económica, accesible y ambientalmente amigable, especialmente para pequeños productores que buscan prácticas compatibles con la producción orgánica.

Por tanto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar *in vitro* el efecto inhibitorio de extractos y aceites esenciales de *Urtica dioica* L y *Ruta graveolens* L. sobre el crecimiento radial y la esporulación del agente causal de la moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*). Esta evaluación busca aportar evidencia científica que sustente su potencial como agentes de control biológico en sistemas de producción de cacao sostenible y de alta calidad, con énfasis en el contexto de la región Amazonas del Perú.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

Área de ejecución

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Investigación de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, ubicada en la ciudad de Chachapoyas, a una altitud de 2,335 m s. n. m., con coordenadas geográficas de 6°13'57"S y 77°52'57"O.

Metodología y tratamientos

El estudio conformó una población-muestra de 100 placas Petri de 90 mm de diámetro x 15 mm de altura para evaluar el efecto de extractos y aceites esenciales de ortiga y ruda en el biocontrol del hongo fitopatógeno *Moniliophthora roreri*.

El diseño experimental comprendió cuatro ensayos independientes: (1) extracto de ortiga, (2) aceite

esencial de ortiga, (3) extracto de ruda y (4) aceite esencial de ruda. Cada ensayo incluyó cinco tratamientos (Tn), definidos por el tipo de sustancia y su concentración (Cn), con cinco repeticiones por tratamiento. Se incorporó un testigo negativo (T0) para evaluar el efecto inhibitorio específico de cada tratamiento y permitir comparaciones directas. Las sustancias evaluadas se codificaron de la siguiente manera: A = extracto de Ortiga, B = aceite esencial de ortiga, D = extracto ruda y E = aceite esencial de ruda.

Variables de estudio

Porcentaje de inhibición del crecimiento radial

El crecimiento radial se evaluó mediante la medición del diámetro de las colonias fúngicas cada 24 horas. Las mediciones se realizaron hasta que la colonia del testigo (T0) cubrió las tres cuartas partes de la placa de Petri, lo cual ocurrió al noveno día.

Porcentaje de inhibición de la formación de esporas

La inhibición de la esporulación se determinó mediante el conteo de esporas en una cámara de Neubauer (hemocitómetro). La evaluación se realizó el noveno día.

Preparación de extractos y aceites esenciales

Proceso de obtención de extractos

La recolección de ortiga y ruda se realizó en el centro poblado de Taquia, provincia de Chachapoyas. Se seleccionaron 500 g de material vegetal fresco, los cuales fueron lavados con hipoclorito de sodio al 0.5% por 3 minutos y enjuagados tres veces con agua destilada estéril siguiendo con lo establecido por (Martín et al., 2017). Las partes aéreas (hojas, tallos y flores) fueron cortadas en fragmentos de 2 cm con bisturí desinfectado y trituradas en mortero de porcelana estéril hasta obtener una mezcla homogénea, la cual se trasladó a un vaso de precipitados de 1 L, al que se añadieron 500 mL de agua destilada estéril. La maceración se realizó durante siete días a 22 ± 2 °C, protegida de la luz con papel aluminio y con agitación diaria durante 3 minutos. Finalizado el proceso, el líquido macerado se filtró con papel Whatman N.º 01 estéril y el extracto acuoso se almacenó en frascos

ámbar herméticos, en condiciones ambientales controladas hasta su uso experimental.

Proceso de obtención de aceites esenciales

Los aceites esenciales se obtuvieron mediante destilación por arrastre de vapor. El material vegetal fresco fue lavado con agua corriente, secado en bandejas de acero inoxidable durante 24 horas a temperatura ambiental, posteriormente y en un ambiente ventilado y protegido de la luz, se procesaron 10 kg de material vegetal por especie, previamente pesado en una balanza industrial calibrada, colocados en el tanque de destilación con 15 L de agua destilada. La destilación se realizó entre 2 y 3 horas, hasta cesar la aparición de fase oleosa. El destilado se recolectó en un balón de decantación para separar por gravedad el hidrolato del aceite esencial. La fracción oleosa fue envasada en frascos ámbar esterilizados de 50 mL, herméticamente sellados y almacenados en condiciones ambientales controladas hasta su utilización.

Recolección de la muestra y aislamiento de *Moniliophthora roreri*

La recolección de mazorcas de *T. cacao* L. con síntomas de moniliasis (Suárez, 2006) se realizó en el anexo de Lluhuana, distrito de Copallín (Bagua, Amazonas). En el laboratorio, las mazorcas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2.5% (3 min), etanol al 70% (3 min) y enjuagadas con agua destilada estéril. En condiciones asépticas, se retiró la epidermis con bisturí estéril y se extrajeron fragmentos del mesocarpio colonizado usando un sacabocados. Cinco fragmentos por muestra fueron sembrados sobre placas Petri con medio PDA esterilizado. Las placas se sellaron con parafilm e incubaron a 28 °C en oscuridad por 9 días, evaluando el desarrollo micelial y descartando contaminaciones.

Identificación de *Moniliophthora roreri*

La identificación morfológica se realizó mediante la metodología de tinción simple con el colorante azul de lactofenol para observar estructuras características macroscópicas y microscópicas del patógeno (Suárez, 2006). Una vez concluido el periodo de incubación,

se seleccionaron colonias con crecimiento micelial blanco algodonoso, típico de *M. roreri*. Bajo condiciones estériles, se tomó una porción del micelio con una aguja de disección y se montó sobre un portaobjetos con una gota de azul de lactofenol. Se observó en un microscopio óptico binocular de aumento; esta observación permitió identificar estructuras morfológicas propias del agente causal de la moniliasis: hifas septadas, esporas clavateas y abundantes conidios, confirmando la presencia de *Moniliophthora roreri*. A partir del aislamiento inicial se procedió a la purificación mediante la técnica de cultivo por punto de hifa, con el objetivo de obtener colonias monospóricas para los ensayos posteriores.

Preparación del medio de cultivo PDA con extractos y aceites esenciales

Se formularon cinco concentraciones (0%, 5%, 10%, 15% y 20% v/v) de extractos o aceites esenciales de *Urtica dioica* L. y *Ruta graveolens* en medio PDA. Para cada concentración, se mezclaron 4,68 g de PDA en 120 mL de solución, compuesta por el volumen correspondiente de extracto o aceite (0, 6, 12, 18 y 24 mL) y agua destilada estéril según lo descrito por (Ahmad et al., 2017). Las mezclas se calentaron hasta ebullición con agitación constante, se cubrieron con tapón de algodón y papel aluminio, y se esterilizaron en autoclave a 121 °C y 15 psi durante 15 minutos. Una vez enfriadas a 45 °C, las soluciones se vertieron asépticamente en placas Petri estériles (90 mm), a razón de 20 mL por placa, dentro de una cabina de flujo laminar desinfectada y expuesta a UV. Las placas fueron selladas con parafilm, protegidas con papel opaco y almacenadas a 4 ± 1 °C hasta su utilización.

Inoculación de *Moniliophthora roreri* en medios de cultivo envenenado

Desde cultivos puros en medio PDA con crecimiento activo (cubriendo $\frac{3}{4}$ de la placa), se extrajeron discos de micelio del margen de la colonia (hifas en expansión) utilizando un sacabocado estéril de 7 mm (Fiori et al., 2000); en condiciones asépticas dentro de una cabina de flujo laminar, cada disco fue transferido al centro de una placa con medio PDA suplementado con extracto o aceite esencial en

distintas concentraciones (0–20%). Las placas fueron selladas con parafilm, codificadas y colocadas en incubación a 28 ± 1 °C en oscuridad.

Evaluación del crecimiento radial e inhibición de *Moniliophthora roreri*

La evaluación del crecimiento radial del hongo se realizó siguiendo la metodología de (Fiori et al., 2000). Las mediciones se iniciaron a las 24 horas posteriores a la inoculación y se repitieron diariamente a la misma hora, hasta que las colonias del tratamiento control (T0) cubrieron dos tercios del medio. El diámetro fue registrado en milímetros utilizando un vernier digital. El porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) se calculó mediante la fórmula propuesta por (Nagendra et al., 2011):

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

Donde C es el diámetro de crecimiento en el control y T el diámetro en el tratamiento.

Evaluación de la esporulación e inhibición

Para determinar la inhibición de la esporulación, se siguió el protocolo de Araujo y Guaminga (2022). A cada placa se añadieron 10 mL de agua destilada estéril con Tween 80 al 0.1%, removiendo la superficie con una espátula Drigalsky. La suspensión fue agitada durante 60 segundos y se cuantificaron las esporas mediante recuento en cámara de Neubauer.

El porcentaje de inhibición de la esporulación (PIE) se calculó con la fórmula:

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

Donde C corresponde a la concentración de esporas del control y T al tratamiento.

Análisis de datos

Para determinar las diferencias estadísticas entre tratamientos se realizó un análisis de varianza (ANVA) al 5% de significancia, aplicando la prueba de comparación múltiple de Tukey ($\alpha = 0,05$) en los casos en que se identificaron diferencias significativas.

Los datos estadísticos fueron procesados utilizando el software InfoStat versión 2017.1.2.

III. RESULTADOS

Inhibición del crecimiento radial de *M. roreri* con extracto de ortiga.

El extracto de ortiga mostró una clara relación dosis-respuesta en la inhibición del crecimiento radial de *M. roreri* en condiciones *in vitro*. En la figura 1, se muestra que el tratamiento con 5% presentó una inhibición del 8,88%, incrementándose progresivamente hasta alcanzar el 53,78% con la concentración del 20%, que representó el mayor efecto antifúngico observado. Los resultados evidencian una actividad antifúngica dependiente de la dosis, con diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, lo que refuerza el potencial del extracto de ortiga como agente biocontrolador para el manejo sostenible de la moniliasis del cacao.

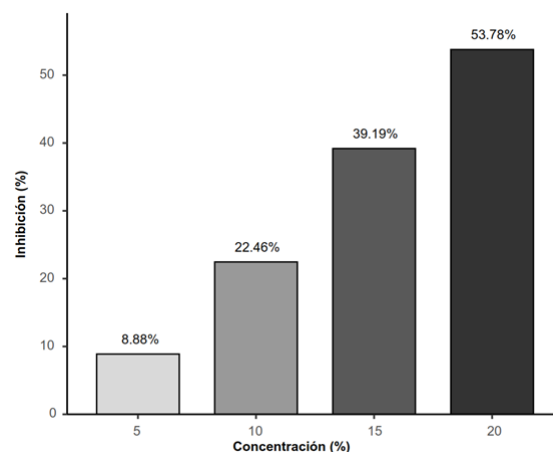


Figura 1. Inhibición del crecimiento radial de *M. roreri* por el extracto de ortiga.

Inhibición de esporulación de *M. roreri* en medio de cultivo invitro con extracto de ortiga.

Se evaluó el efecto de cinco concentraciones del extracto de *Urtica dioica* L. sobre la esporulación de *Moniliophthora roreri*. Los resultados muestran una relación dosis-dependiente positiva: a mayor concentración, mayor inhibición de la esporulación (Figura 2). A 5% de concentración, la inhibición fue del 39,88%, aumentando a 47,94% con 10%, 68,98%

con 15%, y alcanzando un máximo del 77,95% con 20%. Estas cifras evidencian la eficacia del extracto para interferir con la reproducción del hongo, un proceso clave en su propagación. El análisis estadístico confirmó diferencias significativas entre los tratamientos, aunque las concentraciones de 15% y 20% no difirieron entre sí, indicando un posible umbral de saturación en el efecto antifúngico.

En conjunto, los resultados destacan el potencial del extracto de ortiga como herramienta de biocontrol, tanto por su capacidad para inhibir el crecimiento como la esporulación de *M. roreri*, consolidándose como una alternativa prometedora en el manejo integrado de la moniliasis del cacao.

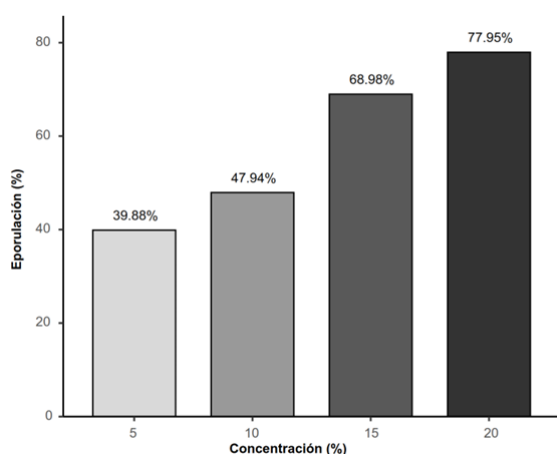


Figura 2. Inhibición de la esporulación de *M. roreri* por el extracto de ortiga.

Inhibición del crecimiento radial de *M. roreri* en medio de cultivo invitro con extracto de ruda.

La Figura 3 muestra una respuesta dosis-dependiente del extracto de *Ruta graveolens* sobre el crecimiento radial de *Moniliophthora roreri*. A medida que se incrementó la concentración del extracto, se observó un aumento progresivo en el porcentaje de inhibición. A 5%, el efecto fue moderado (9,33%), mientras que a 10% y 15% la inhibición alcanzó 23,51% y 31,61%, respectivamente. La concentración del 20% presentó la mayor eficacia, con un 47,28% de inhibición.

El análisis estadístico confirmó diferencias significativas entre los tratamientos, evidenciadas por las letras asignadas en la figura: mientras que el

control (0%) se agrupa con la letra A, los tratamientos con 5%, 10% y 15% difieren entre sí (B y C), y el 20% se distingue con la letra D, reflejando su mayor potencia antifúngica.

Estos resultados evidencian que el extracto de ruda posee actividad antifúngica efectiva, aunque de intensidad moderada en comparación con otros extractos evaluados. Su inclusión en estrategias de manejo integrado, especialmente aquellas orientadas hacia un enfoque ecológico, podría contribuir al control complementario de la moniliasis del cacao.

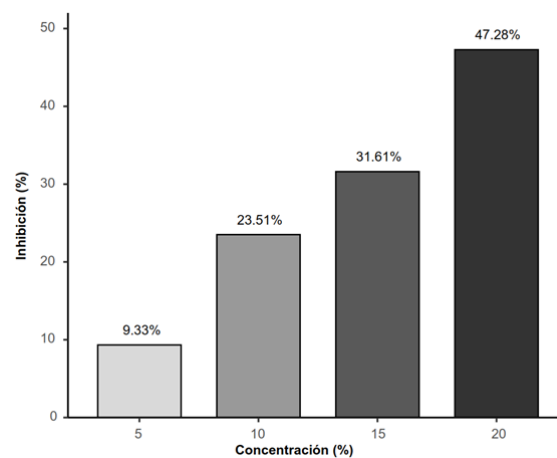


Figura 3. Inhibición del crecimiento radial de *M. roreri* por el extracto de ruda.

Inhibición de esporulación de *M. roreri* en medio de cultivo invitro con extracto de ruda.

La figura 4 muestra cómo el extracto de *Ruta graveolens* inhibe la esporulación de *Moniliophthora roreri* en condiciones in vitro. Se observa una clara relación dosis-respuesta: a mayor concentración del extracto, menor esporulación del hongo.

A concentraciones del 5%, 10%, 15% y 20%, los porcentajes de esporulación fueron 21.62%, 34.91%, 63.20% y 79.37%, respectivamente. Esto indica que la esporulación disminuye progresivamente con el aumento de la concentración del extracto, alcanzando una inhibición notable a partir del 15%.

Estos resultados evidencian la eficacia antifúngica del extracto de ortiga, sugiriendo su potencial como alternativa biológica para el control de enfermedades fúngicas como la moniliasis del cacao, en el marco de

una agricultura sostenible.

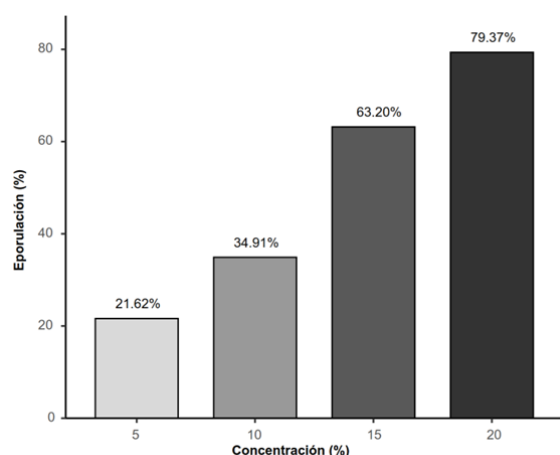


Figura 4. Inhibición de esporulación de *M. roreri* por el extracto de ruda (*Ruta graveolens*).

Inhibición del crecimiento radial e inhibición de esporulación con aceite esencial de ortiga.

Durante la ejecución del presente estudio, se contempló la extracción de aceite esencial de ortiga (*Urtica dioica* L.). Sin embargo, tras realizar seis ciclos de destilación con tiempos progresivos de extracción (6, 9 y 12 horas), la cantidad obtenida fue insuficiente para llevar a cabo los ensayos de inhibición del crecimiento radial e inhibición de la esporulación. A pesar de los ajustes en el tiempo de extracción, el rendimiento del aceite esencial fue mínimo, lo que limitó su aplicación experimental en esta fase del estudio.

Inhibición del crecimiento radial e inhibición de esporulación con aceite esencial de ruda.

Se empleó el método de medio de cultivo envenenado, conforme a la metodología descrita por (Ahmad et al., 2017), con el objetivo de evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial de ruda. Sin embargo, las concentraciones aplicadas resultaron ser excesivamente altas, lo que provocó una inhibición total del crecimiento radial de *Moniliophthora roreri* desde el inicio del ensayo. Como consecuencia, no fue posible determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento radial ni evaluar la inhibición de la esporulación, dado que no se desarrolló colonia fúngica alguna bajo las condiciones evaluadas.

IV. DISCUSION

El efecto antifúngico que tienen los extractos de ortiga (*Urtica dioica* L.) han sido evidenciados en estudios previos realizados en diferentes cultivos. Villacís-Aldaz et al. (2017) reportaron que una concentración de 1 mL de extracto de ortiga logró una inhibición in vitro del 12,94% sobre la antracnosis (*Colletotrichum acutatum*), patógeno del tomate de árbol. En nuestro estudio, los resultados evidenciaron que dicho extracto inhibió significativamente el crecimiento radial de moniliasis del cacao, observando diferencias significativas entre los tratamientos, siendo la concentración del 20% la que presentó mayor inhibición (53,8%) comparado con el control.

Este resultado concuerda con Freire (2017), quien reportó una inhibición del 69,70% del crecimiento radial de *M. roreri* con extractos de ruda al 50%, efecto atribuido a la capacidad del extracto para detener la esporulación y la germinación de las esporas por su acción fungistática y fungicida.

De manera similar, Guerrero et al. (2020) demostraron que los extractos vegetales de especies como el bleo (*Amaranthus hybridus*), huacatay (*Tagetes minuta*), golondrina (*Euphorbia hirta*), verdolaga (*Portulaca oleracea*) y escobilla (*Scoparia dulcis*) inhibieron el crecimiento de moniliasis de cacao (*M. roreri*) y pudrición parda (*Moniliophthora palmivora*) en concentraciones del 10%, 20% y 30%, evidenciando el potencial de distintas especies vegetales con propiedades antimicrobianas. En este contexto, Araujo y Guaminga (2022) identificaron la presencia de metabolitos secundarios como carbohidratos, alcaloides, saponinas, taninos, flavonoides y fenoles en extractos acuosos de ortiga, compuestos que desempeñan un papel crucial en la actividad antimicrobiana de las plantas.

Por otro lado, se observó que el extracto de ruda también presenta una inhibición significativa del crecimiento radial de *M. roreri*; Al respecto, Lima et al. (2015) demostraron que los extractos de ruda inhibieron el crecimiento micelial del tizón del arroz (*Magnaporthe oryzae*) en más del 90%, utilizando concentraciones entre 0,5 y 7,0 mg/mL. En el presente

estudio, la concentración del 20% fue la más efectiva, con una inhibición del 47,28%, dato que coincide con los hallazgos de Arcos et al. (2019), quienes reportaron una inhibición del 57% del crecimiento de *M. roreri* con extractos al 25%. Además, Medina (2022) evidenció que extractos acuosos de ajo (*Allium sativum* L.) y ají (*Capsicum spp.*), preparados al 30% y 20%, respectivamente, mostraron efectos notables en la inhibición de *M. roreri*. Por su parte, Oliva et al. (2003) identificaron que extractos de hojas de ruda mediante extracción con acetato de etilo, contienen furanocumarinas y alcaloides de quinolina y quinalona, compuestos con actividad antifúngica moderada sobre antracnosis (*C. acutatum*), marchitez por fusarium (*Fusarium oxysporum*), moho gris (*Botrytis cinerea*) y excoriosis (*Phomopsis viticola*).

Los resultados de este estudio corroboran que tanto los extractos de la ortiga como la ruda presentan capacidad de inhibición in vitro del crecimiento micelial de *M. roreri*, agente causal de la moniliasis del cacao. Sin embargo, es importante considerar que la eficacia puede variar según la concentración del extracto y la parte de la planta utilizada, dado que el contenido de metabolitos secundarios varía entre especies y estructuras vegetales (Ramírez, 2021).

En relación con la esporulación, los extractos evaluados en el presente estudio, también demostraron efectos inhibitorios de *M. roreri*. Xoca-Orozco et al. (2022) observaron que el extracto de muérdago mexicano (*Psittacanthus calyculatus*) a 15 mg/mL redujo la esporulación de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), moho negro (*Curvularia sp.*) y marchitez por Fusarium (*Fusarium sp.*). En este trabajo, el extracto de Ortiga a 15% y 20% inhibió la esporulación de *M. roreri* en un 69,98% y 77,95%, respectivamente, sin diferencias significativas entre ambas concentraciones. Por su parte, el extracto de ruda al 20% inhibió la esporulación en un 79,37%, lo que confirma su alto potencial antifúngico frente a esta especie. Otros estudios han reportado efectos similares en distintas especies vegetales; por ejemplo, Cortés-Rivera et al. (2021) indicaron que extractos acuosos del mesocarpio de *Cocos nucifera* L. al 10%

inhibieron la esporulación de *Rhizopus stolonifer* en un 94%.

Aguilar et al. (2022) reportaron inhibiciones del 99,45% y 83,83% con extractos de *Hibiscus sabdariffa* L. y *Psidium guajava* L., respectivamente. En contraste, *Carica papaya* mostró una baja inhibición (46,89%), mientras que extractos de *Bougainvillea spp.*, *Dysphania ambrosioides*, *Mangifera indica* y *Pimenta dioica* lograron una inhibición completa de la esporulación (100%). Otros estudios también se evaluaron los efectos de los aceites esenciales de ortiga y ruda, se utilizaron concentraciones de 5% a 20% logrando inhibir completamente el crecimiento de *M. roreri*, excepto en el testigo. Por otro lado, Aouadhi et al. (2013) destacaron que el aceite esencial de ruda inhibe el crecimiento de *Aspergillus flavus*, *A. niger* y *Candida albicans* en concentraciones entre 0,8% y 1,6%. Haddouchi et al. (2013) observaron que el aceite esencial ruda al 1% inhibe el crecimiento de varios hongos patógenos, incluyendo *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* y *Cladosporium herbarum*.

Es preciso señalar que, en cuanto la ortiga, la obtención del aceite esencial resultó limitada. Delgado y Rosado (2022) reportaron que, mediante destilación por arrastre de vapor de 5 kg de ortiga, no logró obtener aceite esencial, sino apenas hidrolatos en pequeñas cantidades. Petkova et al. (2020) lograron extraer aceite esencial de semillas de ortiga por prensado en frío, aunque este proceso no pudo replicarse en la presente investigación por falta del equipo necesario.

Finalmente, Moghaddam y Mehdizadeh (2016) explican que la actividad antifúngica de los aceites esenciales se debe a la presencia de compuestos volátiles como terpenos y fenoles, los cuales, por su carácter lipofílico, alteran la permeabilidad de la membrana plasmática del hongo, provocando efectos morfológicos y pérdida de viabilidad celular.

V. CONCLUSIONES

Los extractos vegetales de ortiga (*Urtica dioica* L.) y la ruda (*Ruta graveolens* L.) poseen un notable potencial antifúngico in vitro frente a *Moniliophthora*

roreri, agente causal de la moniliasis del cacao. De manera destacada, el extracto de ortiga al 20% logró una inhibición del crecimiento radial del 53,8% y redujo la esporulación hasta en un 77,95%, mientras que el extracto de ruda al 20% presentó una inhibición del 47,28% y del 79,37% en esporulación, confirmando su eficacia en múltiples fases del desarrollo del fitopatógeno.

El uso de aceites esenciales de *Ruta graveolens* demostró una inhibición total del crecimiento micelial de *Moniliophthora roreri*, evidenciando un efecto fungicida de alto impacto. Este hallazgo establece una base científica para el aprovechamiento de extractos y aceites esenciales de origen vegetal como alternativas sostenibles y de bajo impacto ambiental para el manejo integrado de enfermedades como la moniliasis del cacao.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORES

Conceptualización: C.E.T.F.; metodología: C.E.T.F.; Validación: S.T.L.E.; Análisis formal: S.T.L.E.; Investigación: C.E.T.F.; Recursos: C.E.T.F.; Depuración de datos: S.T.L.E.; Redacción del borrador original: C.E.T.F.; Redacción, revisión y edición: S.T.L.E.; Visualización: C.E.T.F.; Supervisión: S.T.L.E.; Administración del proyecto: C.E.T.F.

CONFLICTO DE INTERESES

El autor S.T.L.E. forma del comité científico de la revista de Agroproducción Sustentable, Sin embargo, se garantiza que no participó en el proceso de evaluación ni en la toma de decisiones editoriales relacionadas con el presente manuscrito.

VI. REFERENCIAS

Abd-Elgawad, A. M., El Gendy, A. E. N. G., Assaeed, A. M., Al-Rowaily, S. L., Omer, E. A., Dar, B. A., Al-Taisan, W. A., & Elshamy, A. I. (2020). Essential Oil Enriched with Oxygenated Constituents from Invasive Plant *Argemone ochroleuca* Exhibited Potent Phytotoxic Effects. *Plants* 2020, Vol. 9, Page 998, 9(8), 998. <https://doi.org/10.3390/PLANTS9080998>

- Acosta, S., & Villa, J. (2016). Evaluación de *Trichoderma* spp como control biológico en una plantación a pequeña escala de cacao. In *Journal of Agriculture and Animal Sciences* (Vol. 5). <http://hdl.handle.net/10567/1750>
- Adeniran, A. O., Onanaye, A. S., & Adeleke, O. J. (2024). Optimal control of Cocoa Black pod disease: A multi-pronged approach. *Franklin Open*, 7, 100100. <https://doi.org/10.1016/J.FRAOPE.2024.100100>
- Adnew, A., Shifa, H., & Mohammed, A. (2022). Antifungal activity of plant extracts against postharvest mould fungi associated with coffee (*Coffea arabica* L.) in Bale Zone, Ethiopia. *Organic Agriculture*, 12(1), 107–124. <https://doi.org/10.1007/S13165-022-00385-3>
- Aguilar, D. A., Ramírez González, S. I., López Báez, O., & Prieto Méndez, J. (2022). Control in vitro de antracnosis (*colletotrichum gloeosporioides*) aislado de annona muricata l. con extractos vegetales. *Revista Espacio I+D Innovación Más Desarrollo*, XI(31), 35–53. <https://doi.org/10.31644/IMASD.31.2022.a02>
- 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. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 50(11–12), 568–583. <https://doi.org/10.1080/03235408.2017.1352247>
- Akrofi, A. Y., Amoako-Atta, I., Assuah, M., & Asare, E. K. (2015). Black pod disease on cacao (*Theobroma cacao*, L) in Ghana: Spread of *Phytophthora megakarya* and role of economic plants in the disease epidemiology. *Crop Protection*, 72, 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.01.015>
- Ali, H. M., Elgat, W. A. A. A., El-hefny, M., Salem, M. Z. M., Taha, A. S., Al Farraj, D. A., Elshikh, M. S., Hatamleh, A. A., & Abdel-salam, E. M. (2021). New Approach for Using of

- Mentha longifolia* L. and *Citrus reticulata* L. Essential Oils as Wood-Biofungicides: GC-MS, SEM, and MNDO Quantum Chemical Studies. *Materials* 2021, Vol. 14, Page 1361, 14(6), 1361. <https://doi.org/10.3390/MA14061361>
- Alimoddin, M., Jayakumari, S., Fatima, B., Hasan, N., Ali, S., Sami, F., Ali, M. S., Nair, R. S., & Ansari, M. T. (2024). Pharmacological applications of *Urtica dioica*: a comprehensive review of its traditional use and modern scientific evidence. *Journal of Herbal Medicine*, 48, 100935. <https://doi.org/10.1016/J.HERMED.2024.100935>
- Alves da Silva, N. J., Menezes Reis, S. P., Diorato, V. S., Rocha, J. S. A., Barbosa, C. S., Ciampi-Guillardi, M., Patrocínio, N. G. R. B., Niella, G. R., Solis, K., Peñaherrera, S., Manco, M. J. da S., Teixeira, G. A., Arévalo-Gardini, E., & Gramacho, K. P. (2022). A molecular diagnostic for *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao, that differentiates it from its sister taxon *Moniliophthora roreri*. *Crop Protection*, 158, 106003. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2022.106003>
- 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*. *Arch Inst Pasteur Tunis*, 90 (1-4), 39–46. <https://www.researchgate.net/publication/266675392>
- Araujo, R. M., & Guaminga, S. G. (2022). *Estudio bibliográfico comparativo de la eficacia de extractos a base Urtica dioica como antibacterianos*. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/61467>
- 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*, 1, 19–24.
- Asitoakor, B. K., Ræbild, A., Asare, R., Vaast, P., Howe, A. G., Eziah, V. Y., Owusu, K., Mensah, E. O., Kotey, D. A., & Ravn, H. P. (2024). The potential of selected shade tree species for managing mirids and black pod disease infection in cocoa agroforestry systems in Ghana. *Crop Protection*, 184, 106810. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2024.106810>
- Bailey, B. A., Evans, H. C., Phillips-Mora, W., Ali, S. S., & Meinhardt, L. W. (2018). *Moniliophthora roreri*, causal agent of cacao frosty pod rot. *Molecular Plant Pathology*, 19(7), 1580–1594. <https://doi.org/10.1111/P.12648;WGROU:STRING:PUBLICATION>
- Benabdesslem, Y., Ghomari, S., Adli, D. E. H., Mébarki, M., & Hachem, K. (2022). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil Derived from the Leaves of *Argania spinosa* (L.) Grown in Northwestern Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 25(1), 103–110. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2022.2032376>
- Bhardwaj, D., Giri, A., Kumar, V., & Srivastava, V. C. (2024). Nettle (*Urtica* spp.) phytotomy and applications: Crop variety selection and advanced product development for the manufacturing of natural fiber composites. *Industrial Crops and Products*, 210, 118180. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2024.118180>
- Camiletti, B. X., Asensio, C. M., Gadban, L. C., Pecci, M. de la P. G., Conles, M. Y., & Lucini, E. I. (2016). Essential oils and their combinations with iprodione fungicide as potential antifungal agents against withe rot (*Sclerotium cepivorum* Berk) in garlic (*Allium sativum* L.) crops. *Industrial Crops and Products*, 85, 117–124. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2016.02.053>
- Carvajal, V., Enrique, J., Valbuena, B., Orlando, J., Rosero, V., & Edgar, S. (2012). Evaluación

- in vitro de Microorganismos Nativos por su Antagonismo contra *Moniliophthora roreri* Cif & Par en Cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín*, 65(1), 6305–6315. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179924340002>
- Cortés-Rivera, H. J., González-Estrada, R. R., Huerta-Ocampo, J. Á., Blancas-Benítez, F. J., Gutiérrez-Martínez, P., Cortés-Rivera, H. J., González-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*, 24, 1–11. <https://doi.org/10.22201/FESZ.23958723E.2021.0.293>
- Cortez, D., Flores, M., Calampa, L. L., Oliva-Cruz, M., Goñas, M., Meléndez-Mori, J. B., & Chavez, S. G. (2024). From the seed to the cocoa liquor: Traceability of bioactive compounds during the postharvest process of cocoa in Amazonas-Peru. *Microchemical Journal*, 201, 110607. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2024.110607>
- Cubillos, G. (2017). Frosty Pod Rot, disease that affects the cocoa (*Theobroma cacao*) crops in Colombia. *Crop Protection*, 96, 77–82. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2017.01.011>
- Delgado Canales, C. C., & Rosado Espiritu, J. K. (2022). *Caracterización fisicoquímica del aceite esencial extraído de hojas de Urtica dioica (ortiga) proveniente de la Región Junín*, 2021. <https://orcid.org/0000-0002-5591-0322>
- El Khetabi, A., Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Lyousfi, N., Banani, H., Askarne, L., Tahiri, A., El Ghadraoui, L., Belmalha, S., & Barka, E. A. (2022). Role of plant extracts and essential oils in fighting against postharvest fruit pathogens and extending fruit shelf life: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 402–417. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2022.01.009>
- Evans, H. C. (2007). Cacao Diseases—The Trilogy Revisited. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-12-1640>, 97(12), 1640–1643. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-12-1640>
- Fiori, A. C. G., Schwan-Estrada, K. R. F., Stangarlin, J. R., Vida, J. B., Scapim, C. A., Cruz, M. E. S., & Pascholati, S. F. (2000). Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. *Journal of Phytopathology*, 148(7–8), 483–487. <https://doi.org/10.1046/J.1439-0434.2000.00524.X>;SUBPAGE:STRING:ABSTRACT;WEBSITE:WEBSITE:PERICLES;WGROU:STRING:PUBLICATION
- Freire, K. S. (2017). Uso de dos métodos de extracción fitoquímicos a base de Jengibre (*Zingiber officinale* L.), Oregano (*Plectranthus amboinicus*) y Ortiga (*Urtica dioica*), para el control in vitro de la monilla (*Moniliophthora roreri* Cif & Par). Quevedo : UTEQ. <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/2278>
- 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*). *Ingeniería e Innovación*, 8(1). <https://doi.org/10.21897/23460466.2326>
- Gurjar, M. S., Ali, S., Akhtar, M., & Singh, K. S. (2012). Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agricultural Sciences*, 3(3), 425–433. <https://doi.org/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*, 141(1), 253–258. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2013.03.007>
- Holmes, K. A., Schroers, H.-J., Thomas, S. E., Evans,

- H. C., & Samuels, G. J. (2004). Taxonomy and biocontrol potential of a new species of *Trichoderma* from the Amazon basin of South America. *Mycological Progress* 2004 3:3, 3(3), 199–210. <https://doi.org/10.1007/S11557-006-0090-Z>
- INDECOPI. (2016, February 21). *Denominación de Origen Cacao Amazonas Perú - Informes y publicaciones - Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual - Plataforma del Estado Peruano*. <https://www.gob.pe/institucion/indecopi/informes-publicaciones/5227603-denominacion-de-origen-cacao-amazonas-peru-2016>
- Krauss, U., Hidalgo, E., Bateman, R., Adonijah, V., Arroyo, C., García, J., Crozier, J., Brown, N. A., ten Hoopen, G. M., & Holmes, K. A. (2010). Improving the formulation and timing of application of endophytic biocontrol and chemical agents against frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) in cocoa (*Theobroma cacao*). *Biological Control*, 54(3), 230–240. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2010.05.011>
- Lima, R., Lima Garcia, M., Carvalho Barros Côrtes, M. V., Corsi de Filippi, M. C., & Cardoso da Conceição, E. (2015). Use of *Ruta graveolens* L. Vegetable Extract Standardised by Furanocoumarin Content to Control *Magnaporthe oryzae* in Rice Plants. *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB)*, 3(9), 94–103. www.arcjournals.org
- Martín, C. V., Pérez Rodríguez, Y., Castellanos González, L., & Soto González, B. (2017). Efectividad de extractos vegetales para el control de *Praticolella griseola* (Pfeiffer) (Gastropoda: Polygyridae). *Centro Agrícola*, 44(2), 68–74. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852017000200009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Medina, Y. V. (2022). *Evaluación de extractos acuosos de ají y ajo sobre el crecimiento micelial de moniliophthora roreri a nivel in vitro*. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/18481>
- Moghaddam, M., & Mehdizadeh, L. (2016). Essential Oil and Antifungal Therapy. *Recent Trends in Antifungal Agents and Antifungal Therapy*, 29–74. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2782-3_2
- Moura, V. B., Pantoja, L. P., Filho, E. H. C., Haber, R. A., Leandro-Silva, V., Costa, D. L. P., Júnior, M. A., Franco, T. M., Nery, M. K. M., Rua, M. L., & de Souza, P. J. de O. P. (2025). Current bioclimatic suitability and climate change impacts on the risk of cacao moniliasis invasion in Pará. *Ecological Modelling*, 505, 111106. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLMODEL.2025.111106>
- Nagendra, M. N., Shankara Bhat, S., Nivedita Dharwar, V., Shraddha Mehta, B., & Chauhan, A. (2011). In vitro efficacy of plant essential oils against *Phomopsis azadirachtae* – the causative agent of die-back disease of neem. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 44(5), 412–418. <https://doi.org/10.1080/03235400903092941>
- Oliva, A., Meepagala, K. M., Wedge, D. E., Harries, D., Hale, A. L., Aliotta, G., & Duke, S. O. (2003). Natural Fungicides from *Ruta graveolens* L. Leaves, Including a New Quinolone Alkaloid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 890–896. <https://doi.org/10.1021/JF0259361>
- Petkova, Z. Y., Antova, G. A., & Angelova-Romova, M. Y. (2020). Biologically active components and health benefits of nettle seed oil. *Grasas y Aceites*, 71(1), e347–e347. <https://doi.org/10.3989/GYA.0108191>
- Pilozzo, G., Villavicencio-Vásquez, M., Chóez-Guaranda, I., Murillo, D. V., Pasaguay, C. D., Reyes, C. T., Maldonado-Estupiñán, M., Ruiz-Barzola, O., León-Tamariz, F., & Manzano, P. (2024). Chemical, antioxidant, and antifungal analysis of oregano and

- thyme essential oils from Ecuador: Effect of thyme against *Lasiodiplodia theobromae* and its application in banana rot. *Heliyon*, 10(10), e31443. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2024.E31443>
- Ploetz, R. (2016). The Impact of Diseases on Cacao Production: A Global Overview. *Cacao Diseases: A History of Old Enemies and New Encounters*, 33–59. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24789-2_2
- Ramirez, N. F. (2021). *Formulación de extractos vegetales para el control de enfermedades agrícolas*. Universidad Nacional Agraria La Molina. <https://hdl.handle.net/20.500.12996/5091>
- Suárez, Y. L. (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. <https://doi.org/10.22463/0122820X.623>
- Tennhardt, L., Lazzarini, G., Weissshaidinger, R., & Schader, C. (2022). Do environmentally-friendly cocoa farms yield social and economic co-benefits? *Ecological Economics*, 197, 107428. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLECON.2022.107428>
- Thomas, S. E., Crozier, J., Catherine Aime, M., Evans, H. C., & Holmes, K. A. (2008). Molecular characterisation of fungal endophytic morphospecies associated with the indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador. *Mycological Research*, 112(7), 852–860. <https://doi.org/10.1016/J.MYCRES.2008.01.008>
- Thube, S. H., Pandian, R. T. P., Rajkumar, M., Babu, M., Josephraj Kumar, A., P. S., Nirmal Kumar, B. J., Hegde, V., Patil, B., Rajashekara, H., Prabhulinga, T., Fand, B. B., Gawande, S., Nagrale, D., Devindrappa, M., & Rajesh, M. K. (2024). *Euwallacea perbrevis* (Schedl, 1951) and associated novel fungal symbiont, *Fusarium* sp.: A potential cause of wilting in cocoa, *Theobroma cacao* in India. *Crop Protection*, 184, 106754. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2024.106754>
- Tsufac, A. R., Awazi, N. P., & Yerima, B. P. K. (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*, 26–37. <https://doi.org/10.9734/JEAI/2020/V42I1030611>
- Ventura, A. E. (2017). Comparación de tres métodos en la extracción de aceite esencial de orégano silvestre (*Lippia* ssp.). *Repositorio Institucional - UNTRM*. <https://repositorio.untrm.edu.pe/handle/20.500.14077/1192>
- Villacis-Aldaz, L. A., León-Gordon, O., Santana-Mayorga, R., Mangui-Tobar, J., Carranza, G., & Pazmiño-Miranda, P. (2017). Actividad anti fúngica (in vitro) de extractos vegetales para el control de antracnosis (*Colletotrichum acutatum*). *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 5(1), 59–64. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-38592017000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Xoca-Orozco, L. A., Cortez-Fonseca, K., Luna-López, C., Hernández-Mendoza, G., Flores-Sierra, J. de J., Chacón-López, M. A., & Aguilera-Aguirre, S. (2022). Inhibición in vitro de hongos fitopatógenos utilizando extractos de muérdago mexicano (*Psittacanthus calyculatus*). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 9(3). <https://doi.org/10.19136/ERA.A9N3.3431>
- Yeo, Y. S., Dembele, D. D., Camara, B., Ouattara, S., Rey, J. Y., Fernandez, D., & Kone, D. (2023). Effect of some biopesticides based on essential oil and plant extracts on postharvest mango Stem-end rot disease caused by *Lasiodiplodia theobromae*. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, 100798. <https://doi.org/10.1016/J.JAFR.2023.100798>