

Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales

Current situation of *Fusarium* spp in the control and evaluation of the antifungal activity on vegetables extracts

*Alejandra Villa-Martínez*¹, *Ramona Pérez-Leal*^{1*}, *Hugo Armando Morales-Morales*²,
*Moisés Basurto-Sotelo*², *Juan Manuel Soto-Parra*³ y *Esther Martínez-Escudero*³

¹Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH). Facultad de Ciencias Agrotecnológicas (FACIATEC). ²Catedrático-Investigador. Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH). Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales. ³Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH), Campus 1 s/n Ciudad Universitaria. Calle Pascual Orozco c.p. 31310, Chihuahua, Chihuahua, México. Autora para correspondencia: perezleal@hotmail.com

Rec.: 06.05.2014 Acep.:08.07.2014

Resumen

Ante la incesante búsqueda de alternativas más confiables y benéficas para el control de plagas y enfermedades en cultivos, se ha abierto un amplio panorama de investigación en torno al uso de extractos vegetales, aceites esenciales y metabolitos secundarios presentes en plantas, que constituyen hoy en día una alternativa promisoriosa para contrarrestar el efecto negativo de algunos microorganismos fitopatógenos, por su bajo costo, por ser amables con el medioambiente y la salud en general. En el presente documento se discuten y presentan algunos de los muchos estudios realizados alrededor del mundo con las evidencias pertinentes sobre la efectividad biológica de diversas especies vegetales para el control de *Fusarium* spp., ya que ha sido uno de los géneros de hongos fitopatógenos más incidentes y devastadores de cultivos en el planeta en los últimos años.

Palabras clave: Aceites esenciales, efectividad biológica, hongos fitopatógenos, metabolitos secundarios.

Abstract

Due to the relentless search for more reliable and beneficial (sustainable?) alternatives for the control of pests and diseases in crops, it has been opened a broad overview of research on the use of plant extracts, essential oils and secondary metabolites from plants, which are today an alternative to decrease the negative effect of some pathogenic microorganisms, because they have low costs, are kind with the environment and animal health. This paper shows and discusses some of the many studies have done around the world with relevant evidence on the biological effectivity of some plant species used in control of *Fusarium* spp., as it is one of the fungi genres most devastating in crops, on the planet in last years.

Keywords: Essential oils, biological effectivity, pathogenic fungi, secondary metabolites.

Introducción

Los hongos del género *Fusarium* son ascomicetos filamentosos y cosmopolitas, tienen un micelio bien desarrollado, septado y conidióforos característicos, aunque algunas especies tienen un talo unicelular. Son considerados principalmente como hongos de campo (Sumalan *et al.*, 2013), ya que causan un sinnúmero de enfermedades en cultivos. Sus daños desencadenan en el hospedante una serie de afecciones generalmente de carácter irreversible, originando pérdidas económicas considerables (García *et al.*, 2007). Desde hace años, el control de las enfermedades fúngicas ha dependido, en gran medida, de los tratamientos con agroquímicos. Sin embargo, su uso representa un severo riesgo para la salud humana y contribuye al aumento de la contaminación al medioambiente (Abdel-Monahim *et al.*, 2011). Además, han dado lugar a la aparición de microorganismos altamente resistentes que conducen a enfermedades fúngicas con mayor incidencia que antes. Para reducir este problema, existe la necesidad de buscar y adoptar estrategias que sean accesibles, sencillas de aplicar y no tóxicas para seres humanos y animales (Naeini *et al.*, 2010). Estudios alrededor del mundo revelan la actividad biológica de algunos metabolitos encontrados en las plantas que pueden ofrecer una alternativa promisoría para el control de plagas y enfermedades. La presente revisión resalta la importancia de estudios realizados mundialmente en torno a la efectividad de plantas para el control de las enfermedades en cultivos causadas por los hongos del género *Fusarium*.

Interacción *Fusarium*-planta

Los hongos del género *Fusarium* son ampliamente conocidos alrededor del mundo, y se han convertido en un problema serio ya que producen metabolitos tóxicos que ponen en peligro la salud de los seres humanos y de los animales. Además, incluye muchos patógenos de plantas de importancia agrícola que en conjunto ocasionan enfermedades caracterizadas por marchitez, tizones, pudriciones en cultivos ornamentales y fores-

tales en ecosistemas agrícolas y naturales (Ma *et al.*, 2013). Como otros fitopatógenos, este hongo emplea diversas estrategias de infección, así también, la especificidad del hospedero depende de cada especie de *Fusarium*. El hongo puede sobrevivir en el suelo como micelio o como esporas en ausencia de sus anfitriones, y si se encuentra cerca una planta hospedera, la infección puede iniciar en las raíces, en partes de la planta por encima del suelo, a través del aire o el agua (Ma *et al.*, 2013). Para que la infección se logre con éxito, la interacción entre hongo-planta responde a un proceso donde se deben movilizar diferentes conjuntos de genes para la señalización temprana del hospedero, la adhesión a la superficie de este, la descomposición enzimática de barreras físicas, la defensa contra los compuestos antifúngicos del anfitrión, y la inactivación y la muerte de las células huésped por micotoxinas segregadas. (Agrios, 2005).

Patogenicidad del hongo

Numerosos estudios acerca de una amplia gama de hongos convergen en la identificación de genes básicos de patogenicidad que codifican para componentes esenciales de las vías involucradas para las señales exógenas o endógenas, tales como proteínas Ras (pequeñas GTPasas) los componentes de señalización de proteína G y sus vías descendentes, diversos complejos proteínicos (Ma *et al.*, 2013) y las cascadas de señales de transducción que son reguladores para el desarrollo del hongo y su virulencia: el sistema de señalización de la adenosin monofosfato cíclico dependiente de proteína quinasa (cAMP-PKA) y la cascada de proteína quinasa activadas por mitógenos (MAPK) (Groenewald, 2006). Estas vías juegan un papel crucial en la formación de estructuras infectivas, tales como los apresorios y la secreción de una mezcla de enzimas hidrolíticas para penetrar el complejo de barreras físicas del huésped, que incluyen quitinasas, celulasas, pectinasas y proteasas. (Groenewald, 2006).

Las primeras señales de reconocimiento planta-hongo incluyen un factor de transcripción CTF1 β , que media constitutiva-

mente la expresión del gen de quitinasa (cut2) que libera unos pocos monómeros de quitina de la planta. Esto desencadena la transcripción de CTF1 α , este es mediador de la activación rápida del gen fúngico de quitinasa extracelular (cut1) para segregar esta enzima que sirve como un factor de virulencia (Agrios, 2005). Las principales reacciones que genera la planta son la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), el incremento en el flujo de Ca⁺², de genes de defensa y la producción de compuestos con propiedades antimicrobianas como las fitoalexinas, o con capacidad de reforzar la estructura de la pared celular, como la callosa o la lignina (García y Ruiz, 2005). Cuando la activación de estas respuestas es suficiente para evitar el crecimiento y reproducción del patógeno en el sitio de penetración, se produce la respuesta de hipersensibilidad (HR), que causa la muerte celular localizada en la región de invasión. Esta respuesta ocurre en la mayoría de las interacciones incompatibles que se establecen entre un patógeno avirulento y una planta resistente, según la teoría gen por gen. (García y Ruiz, 2005).

Las especies de *Fusarium* causantes de marchitez siguen un patrón similar de infección; penetran por la raíz y colonizan en el tallo de las plantas el sistema vascular. Sin embargo, la colonización se restringe en cultivos tanto resistentes como susceptibles, a la región de entrada inicial del patógeno, debido a la oclusión de los vasos por geles, deposiciones de calosa y tilosas. En los cultivos susceptibles la colonización continúa en una distribución secundaria cuando los geles y calosas son degradados por el efecto de enzimas pectolíticas del patógeno y el crecimiento de las tilosas es inhibido. En los cultivos resistentes, flavonoides del tipo de las catequinas y sus productos de oxidación inactivan las enzimas, y la distribución secundaria es confinada a los puntos de infección inicial (González *et al.*, 2012). *Fusarium oxysporum*, por ejemplo, penetra inicialmente por raíz de forma asintomática; posteriormente, coloniza tejido vascular y desencadena un marchitamiento masivo, necrosis y clorosis de las partes aéreas de

la planta. En contraste, *F. graminearum*, la principal causa de fusariosis de la espiga de cereales en todo el mundo, produce una necrosis limitada. (Ma *et al.*, 2013).

Metabolitos tóxicos de *Fusarium* spp.

Las especies de *Fusarium* no sólo inactivan sustancias tóxicas producidas por el anfitrión, sino que también producen toxinas propias que aumentan su virulencia. Algunas, tales como eniatinas y ácido fusárico, son fitotoxinas, es decir, que son tóxicos para las plantas, mientras que otros, las micotoxinas, como tricotecenos y fumonisinas, son tóxicas para los animales (Agrios, 2005), pues sus efectos van desde carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, citotóxicos, neurotóxicos, nefrotóxicos, hasta inmuno-supresores y estrogénicos, por lo que representan un riesgo para la salud pública (Wagacha y Muthomi, 2007). Actualmente se conocen cerca de 300 micotoxinas, y las más relevantes son las aflatoxinas (AFs), la ocratoxina A (OTA), la patulina (PAT), las fumonisinas (FBs), la zearalenona (ZEA), los tricotecenos y los alcaloides del ergot. Estas son producidas por especies que pertenecen a los géneros *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. y *Claviceps* spp. (Abrunhosa *et al.*, 2012). Los tricotecenos son el mayor grupo de micotoxinas y son contaminantes comunes de los cereales, en conjunto con las fumonisinas (FBs) (Wagacha y Muthomi, 2007). Los primeros constituyen una familia de más de 180 metabolitos producidos principalmente por *Fusarium*, y el deoxinivalenol (DON) es uno de los tricotecenos más frecuentemente encontrado en cebada, maíz, centeno, semillas de girasol y trigo (Abrunhosa *et al.*, 2012). Por otro lado, las fumonisinas (FBs) se dividen en grupos estructurales distintos, la fumonisina B1 (FB1) es la más abundante, constituyendo cerca de 70% del total de las FBs del género *Fusarium* y se encuentra principalmente en el maíz. La ZEA es una micotoxina sintetizada por cepas toxicogénicas de *Fusarium*, incluyendo *F. graminearum* y contamina cultivos de cereales en todo el mundo. (Abrunhosa *et al.*, 2012).

Complicidad con otros microorganismos fitopatógenos

Las especies de *Fusarium* son causantes de una gran cantidad de enfermedades en cultivos de todo el mundo y generan importantes pérdidas económicas. En México, según Senasica (2012), una subespecie de *F. oxysporum* causa pérdidas del 10% a 53% del cultivo de papa en el mundo, y la literatura no refiere condiciones ambientales que limiten el desarrollo de este patógeno en las zonas productoras de México, por lo que es considerado de alto riesgo. Además, especies de *Fusarium* como *F. oxysporum* y *F. solani* se han reportado como unos de los principales agentes causales de marchitez en Chile y en México desde 1967, junto a géneros como *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia* spp., *Phytium* spp., entre otros, que han sido considerados como un complejo fitopatogénico, que en condiciones favorables causan la enfermedad y provocan pérdidas económicas devastadoras al afectar del 60% al 100% de la superficie cultivada. (Rivera, 2009). Otro complejo fitopatogénico importante es *Fusarium* con nematodos. Hadian *et al.* (2011) encontraron una asociación sinérgica de *Meloidogyne incognita* y *F. oxysporum* en cultivo de tomate, en Irán. Esta asociación causante de marchitez representa una grave pérdida de rendimiento para este cultivo y también para leguminosas en Medio Oriente.

Situación actual del control de *Fusarium* spp.

El control de los organismos fitopatógenos del suelo es de los más difíciles de lograr; para ello se han desarrollado prácticas culturales, control biológico y control químico, siendo este último el más utilizado por ser económico y eficaz, en comparación con otras medidas. (Rubio *et al.*, 2008). Las enfermedades de las plantas causadas por este tipo de hongos se hallan entre los factores más importantes que aumentan las pérdidas y afectan los rendimientos de los cultivos.

En el tratamiento de enfermedades causadas por *Fusarium* spp. y otros hongos se utilizan fungicidas sistémicos como los benzimidazoles, en este grupo se incluyen el be-

nomil, carbendazim, tiabendazol, y tiofanato. (Agrios, 2005). Sin embargo, es probable que estos fungicidas sean agentes mutagénicos de las plantas, así como que pudieran incrementar el grado de resistencia de los patógenos ante su efecto. (Agrios, 2005). Dane y Dalgic (2005) demostraron el efecto genotóxico del benomil (Metil-1-(butilcarbomoil) benzimidazol-2il-carbamato) en raíces de cebolla (*Allium cepa*) al ser tratadas con diferentes dosis de este fungicida y haber observado algunas anomalías, en la interfase y en las divisiones mitóticas de las células meristemáticas. Estas anomalías fueron los defectos en el husillo mitótico y cariocinesis sin citocinesis. Por otra parte, también observaron los efectos negativos sobre la cromatina como la condensación y descondensación y algunas vacuolas anormales en la interfase.

Defensa de las plantas contra hongos fitopatógenos

Como parte de los mecanismos bioquímicos de defensa, las plantas responden al ataque de patógenos a través de una gran cantidad de mecanismos para resistir la colonización. Estos mecanismos físicos y bioquímicos se clasifican en defensas constitutivas o preformadas, e inducibles. (Durrant y Dong, 2004).

Defensa constitutiva. Incluye barreras físicas, procesos de lignificación, suberización y formación de calosas formadas antes de la presencia de algún patógeno. Las primeras pueden estar presentes en determinadas etapas o en todo el ciclo biológico de la planta, o bien formarse en respuesta al inicio del proceso infeccioso (Montes, 2009). Una capa cerosa en la cutícula de las hojas de algunas especies de plantas, impide la formación de películas de agua en la superficie foliar después de las lluvias, lo que desfavorece la germinación de las esporas de hongos fitopatógenos (Agrios, 2005). Así también, las defensas químicas de las plantas son de diversa índole y poseen una elevada actividad biológica tóxica o inhibidora, algunas de ellas se presentan previas al reconocimiento del patógeno, como fenoles, lignina, taninos, saponinas, antocianinas, flavonoides, glucocinatos, lectinas, glucanasas y quitinasas, entre otros. (Kliebeinstein,

2004). Estos compuestos se pueden encontrar siempre en concentraciones suficientes para inhibir el desarrollo de los hongos como el ácido protocatéquico y catecol que se hallan en cebollas moradas resistentes a antracnosis, y que pueden estar en concentraciones bajas normalmente, pero también pueden incrementarse con la infección, como ocurre con la cumarina escopolina y el ácido clorogénico en papas infectadas con *Phytophthora infestans*. (Montes, 2009).

Defensa inducida. Por otro lado, la defensa inducida es activada únicamente como respuesta al ataque de patógenos durante el proceso infectivo. Las plantas emplean una gran cantidad de señales, originadas por los patógenos o por el medio circundante que les permiten reconocer al agresor y activar sus mecanismos de defensa. (Durrant y Dong, 2004). Son los llamados elicitores las sustancias químicas o factores bióticos que desencadenan un cambio en el metabolismo de la planta. La primera manifestación es la hipersensibilidad (HR) y consiste en una muerte celular localizada en el sitio de infección (Laloi *et al.*, 2004). Ésta se desencadena gracias a la presencia del ácido salicílico (AS) y a la explosión oxidativa por las especies reactivas de oxígeno (ROS), como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y al radical súper óxido (O_2^-). Inicialmente se consideró que la HR era una respuesta característica de plantas resistentes y que se activaba únicamente en aquellas situaciones en las que existía una relación gen a gen. Por otro lado, se asumía que el producto del gen de avirulencia (*avr*), que actúa como elicitor específico de raza, interaccionaba con el producto del gen de resistencia (*R*) correspondiente; esto es, que únicamente se presentaba en interacciones de tipo incompatible.

Los metabolitos secundarios son compuestos que sin ser esenciales para la supervivencia de células individuales, tienen un papel importante en la vida y supervivencia de la planta en su entorno ecológico (Palacios *et al.*, 2004) y considerando las complejas rutas biosintéticas que los originan, se pueden agrupar en terpenos, alcaloides y fenilpropanoides. Los primeros son unidades de isopreno provenientes del ácido mevaló-

nico (Sanmartín, 2008) y son los terpenos la familia más amplia de compuestos sintetizados en la planta. (Valares, 2011). También los diterpenos y triterpenos suelen ser constituyentes comunes de gomas, resinas y otros exudados vegetales; los tetraterpenos engloban un amplio grupo de carotenoides. (Sanmartín, 2008).

Los alcaloides, por su parte, son compuestos nitrogenados derivados de aminoácidos, por ejemplo, los alcaloides isoquinolinos, como morfina y berberina, son sintetizados a partir de tirosina; los alcaloides indol, como vinblastina, son derivados del triptófano; los alcaloides tropanos, como cocaína y escopolamina, son derivados de ornitina (Palacios *et al.*, 2004). Algunos de estos compuestos, como la nicotina, cafeína y α -solanina son insecticidas, esta última encontrada en la patata, inhibe la acetilcolinesterasa. (Salgado, 2012). Además de servir de precursores para la síntesis de alcaloides, los aminoácidos aromáticos también se utilizan para la síntesis de compuestos fenólicos (lignanós, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos) a través de la vía del shikimato, como son los fenilpropanoides, un grupo muy variado tanto química como funcionalmente, y se han relacionado en las actividades de defensa, como el endurecimiento de pared celular (ligninas), actividad antimicrobiana (furanocumarinas, isoflavonoides y estilbenos), repelentes (taninos), y en la señalización (ácido salicílico y ácido genticólico) (Taiz y Zeiger, 2006).

Respuesta sistémica de defensa. A la diseminación de la resistencia a través de los tejidos de la planta se le denomina Resistencia Sistémica Adquirida (SAR) y resulta duradera para la planta, a veces por el resto de su vida, y combate contra un amplio espectro de patógenos como virus, hongos, bacterias y oomicetos. (Durrant y Dong, 2004). Se acuñó este concepto durante 1960 y años siguientes, cuando Ross observó que plantas de tabaco infectadas con TMV (*Tobacco Mosaic Virus*) mostraban resistencia a una infección secundaria en tejidos distales al sitio de infección inicial (Salgado, 2012).

La reacción sistémica se caracteriza por activarse después de la infección por parte de un patógeno necrosante o tras la apari-

ción de HR (Valares, 2011) y va acompañada por el incremento de la expresión de un gran número de genes de proteínas PR ('pathogenesis related') y son armas de la planta para el ataque contra el patógeno y por lo tanto, componentes de la propia respuesta (Valares, 2011) como agentes antimicrobianos y como moléculas señalizadoras. Estas, aunque son expresadas en plantas enfermas, su síntesis puede ser inducida también por reguladores de crecimiento como el etileno, ácido absísico, ácido indol acético, varios productos biológicos, como toxinas y enzimas; factores ambientales como el ozono, la luz y la temperatura (Vidhyasekaran, 2010). En algunos casos, se han detectado PR's en tejido sano sin ningún estrés, como en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y papa (*Solanum tuberosum*), donde aparecen en etapas de floración o madurez, o de forma constitutiva en hojas (Vidhyasekaran, 2010). Se han clasificado en 17 familias de PR's que se localizan intra y extracelularmente. Algunas de estas son reconocidas con actividad de glucanasas, peroxidases, oxalato-oxidases, quitinasas, ribonucleasas, inhibidoras de proteínas, así como en la transferencia de lípidos. (Vidhyasekaran, 2010).

Plantas con propiedades antifúngicas en el control de *Fusarium* spp.

En la agricultura los primeros agroquímicos que se usaron fueron polvos o extractos de plantas, que se utilizaron antes del surgimiento de los compuestos orgánicos sintéticos en la primera mitad del siglo XX; entre estas plantas estuvieron el tabaco, el crisantemo y la rotenona que fueron usadas contra distintos insectos plaga. (Montes, 2009). Por todas las implicaciones negativas acerca del uso inadecuado de plaguicidas y sus efectos secundarios indeseables, tanto en el costo de estos y de la resistencia de patógenos, como en el desgaste ambiental y peligro a la salud pública, se vuelve cada vez más necesario desarrollar nuevos sistemas de gestión para reducir la dependencia de los plaguicidas sintéticos.

Los métodos alternativos para el control de enfermedades se han estudiado con énfasis en nuevos compuestos derivados de

fuentes vegetales, como aceites esenciales y extractos vegetales, como en el principio de los tiempos, ya que son más seguros para los consumidores y el medioambiente, su uso eficaz es contra patógenos resistentes a los plaguicidas y enfermedades de poscosecha. Numerosos estudios alrededor del mundo han contado sobre la eficacia de las plantas en el control de enfermedades causadas por los hongos del género *Fusarium*, que son incidentes en diversos cultivos.

Extractos vegetales

Las mezclas de compuestos con propiedad antifúngica encontrados en las plantas pueden afectar a patógenos diferencialmente, ya sea de manera individual o por las mezclas en determinadas concentraciones y proporciones. Así mismo, diversos métodos de extracción son estudiados para salvaguardar las propiedades extraídas de la mejor y más viable manera posible. En el 2006, Jasso y *et al.*, estudiaron las propiedades fungicidas de extractos etanólicos de tres especies de la llamada maravilla de campo (*Flourensia* spp.), contra *F. oxysporum*, donde el desarrollo micelial fue inhibido más del 90% con el uso de los tres extractos. Así también, otros estudios han sido buenos para la comparación contra fungicidas sintéticos y otros más, como Alkahil (2005), que probó extractos acuosos, por arrastre de vapor y etanólicos de ajo (*Allium sativum*), semilla de neem (*Azardiachta indica*), hierba de limón (*Cymogopogon proxims*), comino (*Carum carvi*) y clavo (*Eugenia caryophyllus*), así como el uso de benomilo, y cepas de *Trichoderma* spp., contra *Fusarium oxysporum*, donde los extractos acuosos de todas las especies vegetales se destacaron con una eficacia mayor del 60%, pero fue el extracto acuoso de ajo el mejor con casi 95% de actividad fungicida, resultados iguales que los obtenidos con el benomilo y superó al control biológico. En el 2008, Joseph *et al.*, trabajaron con extractos acuosos de diversas especies de plantas para el control de marchitez en berenjena (*Solanum Melongena*) causado por *Fusarium solani* f. sp. *Melongenae*. Neem (*Azardiachta indica*), ajenjo (*Artemessia annua*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*); albahaca (*Ocimum*

sanctum) y ruibarbo (*Rheum emodi*) fueron probadas con alto porcentaje de inhibición del hongo, siendo el extracto de neem el más efectivo y recomendado por los autores como un buen tratamiento preventivo aplicado directamente en las semillas de berenjena.

Es importante mencionar que se ha vuelto una tarea difícil elaborar productos naturales eficientes y estables que brinden protección a las plantas, sin embargo, se han probado formulaciones botánicas comerciales, en conjunto con extractos vegetales y con microorganismos de control biológico para estudiar las interacciones. Los resultados han sido alentadores como los de Akila *et al.*, (2011) que evaluaron en banana la eficacia de una formulación comercial a base de trompeta del diablo (*Datura metel*), que contenía también agentes emulsificantes, estabilizadores y solventes, así como los extractos metanólicos de hoja de esta misma planta, y algunos microorganismos de control biológico que controlaron sinérgicamente a *F.oxysporum* f. sp. *cubense*. El extracto metanólico redujo el crecimiento micelial en un 90%, mientras que en condiciones de campo, la mezcla del fungicida botánico comercial, con microorganismos de control biológico y los extractos vegetales, mostraron una reducción hasta del 65% de la marchitez de banana (*Musa sapientum*), resultados que superan la efectividad de cada uno por separado. Se han explotado las diversas metodologías de extracción de propiedades antifúngicas de las plantas y se ha experimentado para crear técnicas integrales buscando mejorar la producción de alimentos inocuos y la protección ambiental.

En el 2009, Usha *et al.*, estudiaron la actividad antifúngica de dos mezclas: la primera elaborada a partir de estramonio (*Datura stramonium*), algodón de seda (*Calotropis gigantea*), neem (*Azardiachta indica*) y estiércol de vaca; y la otra mezcla de extractos metanol-acuosos de las mismas plantas, evaluados contra la malformación floral del mango causada por *Fusarium mangiferae*. El estudio demostró la eficacia de la primera mezcla en la inhibición del hongo, el porcentaje de frutos y la retención, en comparación con el control y la mezcla dos. Esto se debió a las propiedades antifúngicas de las especies

de plantas, y por otro lado, a los niveles más altos observados de macro y micronutrientes aportados por el conjunto de extractos-composta. Se ha demostrado también, la capacidad de algunos extractos vegetales en la inducción de síntesis de enzimas propias de la planta huésped y fortalecer así su respuesta defensiva ante el ataque de patógenos. Fue el caso demostrado de Hanaa *et al.* (2011) que emplearon extractos acuosos de neem (*Azardiachta indica*) y sauce (*Salix babylonica*) en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*); estos redujeron la incidencia de la enfermedad de la marchitez por *F. oxysporum* en plántulas de tomate hasta casi un 30%, mediante el aumento de las actividades de las enzimas defensivas antioxidantes secretadas por la planta de tomate, como la peroxidasa (POX), la catalasa (CAT) y la súper óxido dismutasa (SOD). Estos y muchos otros métodos estudiados han resultado de bajo costo, fáciles de preparar y con niveles altos de efectividad contra algunas especies de *Fusarium* (Cuadro 1).

Aceites esenciales

La mayoría de los aceites esenciales de plantas son químicamente complejos, lo que aumenta su eficacia debido a la sinergia entre los componentes, como recientemente se ha demostrado (Cuadro 2). Pawar y Thaker (2007) emplearon 75 aceites esenciales para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cicer*, entre ellos los más eficaces fueron de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), casia (*Cinnamomum cassia*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y hierba de limón (*Cymbopogon citratus*), pues tuvieron un alto efecto inhibitorio. La contaminación por micotoxinas ha sido un problema fuerte en cereales, y en el 2013 Sumalan y colaboradores estudiaron los efectos de aceites esenciales de toronjil (*Melissa officinalis*), salvia (*Salvia officinalis*), cilantro (*Coriandrum sativum*), tomillo (*Thymus vulgaris*), hierbabuena (*Mentha piperita*) y canela, todos con efecto inhibitorio, sin embargo, el último registró la mejor actividad en contra de fumonisinas en semillas de trigo. Necha y Barrera (2009), reportaron la actividad antifúngica de 6 de 9 aceites esenciales probados contra *Fusarium spp.* Los aceites evaluados fueron de epazote

(*Teloxys ambrosioides*), hierbabuena, ruda (*Ruta chalepensis*), tomillo, canela, clavo, ajo, limón (*Citrus aurantifolia*) y eucalipto; de los cuales, los aceites de canela, epazote, hier-

babuena, ruda, tomillo y clavo tuvieron un alto porcentaje de inhibición del hongo; los aceites de limón, ajo y eucalipto no tuvieron la misma actividad antifúngica.

Cuadro 1. Extractos vegetales probados alrededor del mundo, para el control de enfermedades causadas por *Fusarium* spp.

| Especie de <i>Fusarium</i> | Enfermedad y cultivo | Especie vegetal y tipo de extracto | Resultados obtenidos | Referencia |
|---|--|--|---|------------------------------------|
| <i>Fusarium oxysporum</i> | Enfermedad de Panamá o fusariosis del banano | (Etanólicos) <i>Capparis decidua</i> , <i>Lantana camara</i> y <i>Tridax procumbens</i> | Inhibición en un 100% la germinación de esporas | Sharma <i>et al.</i> , 2009 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lupine</i> y <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lupini</i> Snyder y Hansen | Marchitez de raíz de Lupino | (Acuosos y butanólicos) <i>Calotropis procera</i> , <i>Nerium oleander</i> , <i>Eugenia jambolana</i> , <i>Citrullus colocynthis</i> , <i>Ambrosia maritime</i> , <i>Acacia nilotica</i> y <i>Ocimum basilicum</i> | Reducción de severidad de enfermedad; mejoramiento de parámetros de crecimiento de planta | Abdel-Monahim <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (con el nemátodo <i>Meloidogyne incognita</i>) | Marchitez y nudo de raíz del tomate | (Polvo) <i>Azadirachta indica</i> | Nematicida y antifúngico; aumento de peso y longitud en planta de tomate | Hadian <i>et al.</i> , 2011 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> | Marchitez del tomate | (Cloroformo crudo) <i>Piper betle</i> | Reducción de la población de hongo en el suelo y de síntomas; bajo desarrollo de enfermedad | Singha <i>et al.</i> , 2011 |
| <i>Fusarium verticillioides</i> | Contaminación micotoxigénica del maíz | (Hidro-alcohólico) <i>Equisetum arvense</i> | Efecto antioxidante y reducción de crecimiento del hongo | García <i>et al.</i> , 2012 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | - | Extractos fermentados y no fermentados de <i>Flourensia cernua</i> | Alta actividad inhibitoria | De León <i>et al.</i> , 2013 |

Metabolitos secundarios

Los extractos vegetales y aceites esenciales de cada planta pueden tener hasta más de sesenta componentes y de ellos puede haber varios con propiedades antifúngicas. Generalmente están presentes como mezclas de compuestos y los patógenos pueden ser afectados diferencialmente por los compuestos individuales o por las mezclas en determinadas concentraciones y proporciones. (Montes, 2009) (Cuadro 3). Sahin *et al.* (2004) determinaron la composición del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* spp. *vulgare*), y obtuvieron como resultado

la identificación de 62 compuestos que presentaron aproximadamente el 89 % del aceite. Cariofileno (14.4 %), espatulenol (11.6 %), germacreno-D (8.1 %) y aterpineol (7.5 %). Así mismo, los componentes del aceite esencial se compararon contra los efectos de anfotericina B contra tres especies de *Fusarium*: *F. acuminatum*, *F. oxysporum* y *F. tabacinum*, donde tuvieron los mismos resultados favorables de inhibición de 50% al utilizar una concentración igual de 2 mg/ml. En el 2011, Moreno-López estudió la actividad antifúngica de los metabolitos secundarios mayoritarios encontrados en

Zanthoxylum monophyllum y *Piper eriopodon*, como la berberina y gibbilibol B, respectivamente, sobre *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, en clavel (*Dianthus caryophyllus*), por medio de la técnica de bioautografía en cromatografía en placa delgada (CCD), obteniendo como resultado un efecto fungicida del gibbilibol B sobre el hongo con concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 µg. No así con la berberina, que resultó con halos de inhibición apenas

visibles con la más alta concentración de esta de 100 µg. Por otro lado, Contreras-Arredondo *et al.* (2011) encontraron taninos hidrolizables y condensados como principios activos contra *F. oxysporum* en papa (*Solanum tuberosum* L.), estos obtenidos de extractos etanólicos de flor de Alejandría (*Cowanianaplicata* D. Don.) donde obtuvieron resultados de (CI₅₀) de 3,000 ppm y una (CI₉₀) de 28,000 ppm sobre el hongo.

Cuadro 2. Aceites esenciales probados alrededor del mundo para el control de enfermedades causadas por *Fusarium* spp.

| Especie de <i>Fusarium</i> | Enfermedad y cultivo | Especie vegetal (aceite esencial) | Resultados obtenidos | Referencia |
|--|------------------------------|--|---|------------------------------|
| <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i> y <i>F. graminearum</i> | - | Hoja de canela, clavo de olor, orégano, hierba de limón y palmarosa | Inhibición de los tres hongos | Velluti <i>et al.</i> , 2004 |
| <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. dimerum</i> , <i>F. equiseti</i> y <i>F. lateritium</i> | Pudrición de raíz del comino | <i>Carum carvi</i> , <i>Ocimum sanctum</i> y <i>Pelargonium</i> spp. | Control de la enfermedad y recuperación de parámetros de crecimiento de la planta | Hashem <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>Fusarium solani</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Fusarium poae</i> y <i>Fusarium equiseti</i> | | <i>Zataria multiflora</i> , <i>Cuminum cyminum</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> , <i>Pinaceae</i> y <i>Heraclium persicum</i> | Alta actividad antifúngica de los 5 aceites, Inhibición de crecimiento micelial | Naeini <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | - | <i>Haplopappus baylahuen</i> | Inhibición de crecimiento micelial | Becerra <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>Fusarium graminearum</i> | | <i>Syzygium aromaticum</i> | Inhibición del crecimiento micelial | Cardiet <i>et al.</i> , 2011 |

Cuadro 3. Metabolitos secundarios que han sido extraídos de distintas especies vegetales, y probados alrededor del mundo para el control de enfermedades causadas por *Fusarium* spp.

| Especie de <i>Fusarium</i> | Enfermedad/cultivo | Metabolitos secundarios | Resultados | Referencia |
|---|---------------------------------|--|---|-------------------------------------|
| <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i> | Marchitez del pepino | Flavonoides (<i>Sophora flavescens</i>) | Inhibición del hongo a más del 90%, buen preventivo | Zhou <i>et al.</i> , 2009 |
| <i>Fusarium</i> spp. | - | Concentrados de saponina (<i>Caiphora andina</i> y <i>Che-nopodium quinoa</i>) | Con 50% de inhibición del hongo | Tenorio <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>Fusarium graminearum</i> | Fusariosis de la espiga (trigo) | Eriodictiol, homoeriodictiol, dihidroquercetina y luteolina (<i>Ficus sarmentosa</i>) | Excelente actividad inhibidora, luteolina incluso con CI ₅₀ | Wang <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | Cereales | Citronelal y citronelol (<i>Eucalyptus tereticornis</i>) | Efecto fungistático, daño en hifas y clamidosporas, disminución de conidias | Murillo-Arango <i>et al.</i> , 2011 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> | Tomate | Flavonoides, taninos, saponinas, fenoles, azúcares reductores y triterpenos (<i>Acacia farnesiana</i>) | Efecto biocida mayor de 95% | Rodríguez <i>et al.</i> , 2012 |

Referencias

- Abdel-Monaim, M. F.; Abo-Elyousr K. A. M., y Morsy, K. M. 2011. Effectiveness of plant extracts on suppression of damping-off and wilt diseases of lupine (*Lupinus termis* Forsik). *Crop protection*, 30(2), 185-191.
- Abrunhosa, L.; Morales, H.; Soares, C.; Calado, T.; Vila-Chã, A. S.; Pereira, M., y Venâncio, A. 2012. Micotoxinas detectadas en productos alimenticios en Portugal: revisión. *Rev. Bio Ciencias*, 2 (1), 5-31.
- Agrios, G. 2005. *Plant Pathology*. 5ed. Nueva York. Elsevier Academic Press. 922 p.
- Akila, R.; Rajendran, L.; Harish, S.; Saveetha, K.; Raguchander, T., y Samiyappan, R. 2011. Combined application of botanical formulations and biocontrol agents for the management of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* (Foc) causing *Fusarium* wilt in banana. *Biological Control*, 57(3), 175-183.
- Alkhail, A. A. 2005. Antifungal activity of some extracts against some plant pathogenic fungi. *Pak. J. Biol. Sci.* 8(3), 413-417.
- Becerra, J.; Bittner, M.; Hernández, V.; Brintrup, C.; Becerra, J., y Silva, M. 2010. Actividad de aceites esenciales de canelo, queule, bailahuen y culén frente a hongos fitopatógenos. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, 9, 212-215.
- Cardiet, G.; Fuzeau, B.; Barreau, C., y Fleurat-Lessard, F. 2012. Contact and fumigant toxicity of some essential oil constituents against a grain insect pest *Sitophilus oryzae* and two fungi, *Aspergillus westerdijkiae* and *Fusarium graminearum*. *Journal of Pest Science*, 85(3), 351-358.
- Contreras-Arredondo, M. E.; Hernández-Castillo, F. D.; Sánchez-Arizpe, A.; Gallegos-Morales, G., y Jasso de Rodriguez, D. 2011. Actividad fungicida de extractos de *Cowania plicata* D. Don. contra *Fusarium oxysporum* Schlechtend. Fr. y de *Pistacia lentiscus* L. contra *Colletotrichum coccodes* Wallr. *Hunges. Rev. Agraria Nueva Época*, 8(1), 6-13.
- Dane, F., y Dalgıç, Ö. 2005. The effects of fungicide benomyl (benlate) on growth and mitosis in onion (*Allium cepa* L.) root apical meristem. *Acta Biológica Hungarica*, 56(1), 119-128.
- De León, M. Á.; Sáenz, A.; Jasso-Cantú, D.; Rodríguez, R.; Pandey, A., y Aguilar, C. N. 2013. Fermented *Flourensia cernua* extracts and their in vitro assay against *Penicillium expansum* and *Fusarium oxysporum*. *Food Technology y Biotechnology*, 51(2), 233-239.
- Durrant, W. E., y Dong, X. 2004. Systemic acquired resistance. *Annual Review Phytopathology*. 42, 185-209.
- García, D.; Ramos, A. J.; Sanchis, V., y Marín, S. 2012. Effect of *Equisetum arvense* and *Stevia rebaudiana* extracts on growth and mycotoxin production by *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides* in maize seeds as affected by water activity. *Predictive mycology and use of natural antifungals to prevent the mycotoxin food hazard*, 153, 73.
- García, M. S., y Ruíz, M. G. 2005. Las MAP cinasas: Elementos de señalización en la defensa de las plantas contra patógenos. *Revista de Educación Bioquímica*, 24(1), 4-11.
- García, J. M. D.; Shagarodsky, T.; Fresneda, J. A.; Fundora, Y. H., y González, J. 2007. Caracterización de especies del género *Fusarium* en el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum*) en las provincias ciudad Habana y La Habana. *Temas de Ciencia y Tecnología* 32 (11), 63-66.
- González, I.; Yailén, A., y Peteira, B. 2012. Aspectos generales de la interacción *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici-tomate*. *Revista de Protección Vegetal*, 27(1), 1-7.
- Groenewald, S. 2006. *Biology, pathogenicity and diversity of Fusarium oxysporum f. sp. cubense*. Tesis doctoral, Universidad de Pretoria, Gauteng, Sudáfrica. 158 p.
- Hadian, S.; Rahnama, K.; Jamali, S., y Eskandari, A. 2011. Comparing neem extract with chemical control on *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita* complex of tomato. *Advances in Environmental Biology*, 5(8), 2052-2057.
- Hanaa, R. F.; Abdou, Z. A.; Salama, D. A.; Ibrahim, M. A., y Srour, H. A. M. 2011. Effect of neem and willow aqueous extracts on *Fusarium* wilt disease in tomato seedlings: Induction of antioxidant defensive enzymes. *Annals of Agricultural Sciences*, 56(1), 1-7.
- Hashem, M.; Moharam, A. M.; Zaid, A. A.; y Saleh, F. E. M. 2010. Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium spp.* *Crop protection*, 29(10), 1111-1117.
- Jasso, D.; Hernandez, C. D.; Angulo, S. J. L.; Rodríguez, G. R.; Villarreal, Q. J., y Lira S., R. 2007. Antifungal activity in vitro of *Flourensia spp.* extracts on *Alternaria sp.*, *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Industrial Crops and Products*, 25(2), 111-116.
- Joseph, B.; Dar, M. A., y Kumar, V. 2008. Bioefficacy of plant extracts to control *Fusarium solani* f. sp. *melongenae* incitant of brinjal wilt. *Global Journal of Biotechnology y Biochemistry*, 3(2), 56-59.
- Kliebenstein, D. J. 2004. Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses. *Plant, Cell y Environment*, 27(6), 675-684.

- Laloi, C.; Apel, K., y Danon, A. 2004. Reactive oxygen signalling: the latest news. *Current opinion in plant biology*, 7(3), 323-328.
- Ma, L. J.; Geiser, D. M.; Proctor, R. H.; Rooney, A. P.; O'Donnell, K., Trail, F. y Kazan, K. 2013. *Fusarium* Pathogenomics. *Annual review of microbiology*, 67, 399-416.
- Montes B. R. 2009. Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Micología*, 29, 73-82.
- Moreno-López J. P. 2011. Actividad antifúngica de los extractos vegetales de *Piper eripodon* y *Zanthoxylum monophyllum* y sus metabólicos secundarios mayoritarios sobre dos hongos fitopatógenos de clavel (*Dianthus caryophyllus*). Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 141 p.
- Murillo-Arango, W.; Acevedo-Ruíz, J. M. y Peláez-Jaramillo, C. A. 2011. Actividad antimicótica del aceite esencial a partir de *Eucalyptus tereticornis* sobre el hongo patógeno *Fusarium oxysporum*. *Revista Cubana de Farmacia*. 45(2). 264-274.
- Naeini, A.; Ziglari, T.; Shokri, H., y Khosravi, A. R. 2010. Assessment of growth-inhibiting effect of some plant essential oils on different *Fusarium* isolates. *Journal de Mycologie Médicale/ Journal of Medical Mycology*, 20(3), 174-178.
- Necha, L. L. B., y Barrera, L. J. G. 2009. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium sp.* aislado de papaya (*Carica papaya*). *Revista UDO Agrícola*, 8 (1), 33-41.
- Pawar, V. C. y Thaker, V. S. 2007. Evaluation of the anti-*Fusarium oxysporum* f. sp. *cicer* and anti-*Alternaria porri* effects of some essential oils. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(8), 1099-1106.
- Rivera, J. M. N. 2009. Marchitez del chile poblano (*Capsicum annum L.*): identificación molecular del agente causal, detección en semillas, histopatología y alternativas de control. Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados, Texcoco, México, 98 p.
- Palacios R. N. Biología molecular, una herramienta para la bioprospección del metabolismo secundario de plantas en Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6(2), 67-77.
- Rodríguez, P. A. T.; Ramírez, A. M. A.; Bautista, B. A.; Cruz, T.A., y Rivero, D. 2012. Actividad antifúngica de extractos de *Acacia farnesiana* sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Rev. Científica UDO Agrícola*. 12(1). 91-96.
- Rubio, R. G.; Baltodano S. F.; Abanto C. L.; Wilson K. J.; y Muñoz R. M. 2008. Resistencia *in vitro* de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP. *Revista Biológica de la Universidad de Trujillo, Perú*. 28 (2), 34-46.
- Şahin, F.; Güllüce, M.; Daferera, D.; Sökmen, A.; Sökmen, M.; Polissiou, M., y Özer, H. 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *Vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15(7), 549-557.
- Salgado, S. L. 2012. Inductores de resistencia a TuMV en *Arabidopsis thaliana* (L). *Heynh.* Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados, Texcoco, México. 82 p.
- Sanmartín, L. Z. 2008. Nuevas aportaciones al metabolismo secundario del tomate. Identificación y estudio de moléculas implicadas en la respuesta a la infección con *pseudomonas syringae* pv. *tomato* Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València, Valencia, España. 163 p.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2012. Análisis de riesgo de plagas para la importación de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum L.*) a México. Dirección general de Sanidad Vegetal. Secretaría de Agricultura y Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México.
- Sharma, B., y Kumar, P. 2009. In vitro antifungal potency of some plant extracts against *Fusarium oxysporum*. *International Journal of Green Pharmacy*, 3(1), 63-65.
- Singha, I. M.; Kakoty, Y.; Unni, B. G.; Kalita, M. C.; Das, J.; Naglot, A., y Singh, L. 2011. Control of *Fusarium* wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* using leaf extract of *Piper betle L.*: a preliminary study. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(11), 2583-2589.
- Sumalan, R. M.; Alexa, E., y Poiana, M. A. 2013. Assessment of inhibitory potential of essential oils on natural mycoflora and *Fusarium* mycotoxins production in wheat. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 1-12.
- Taiz L., y Zeiger E. 2006. *Plant Physiology*. Fifth Edition. Sinauer Associates Sunderland. Inc. USA, 1265 p.
- Tenorio, R.; Terrazas, E.; Alvarez, M. T.; Vila, J. L., y Mollinedo, P. 2010. Concentrados de saponina de *Chenopodium quinoa* y de *Caiphora andina*: alternativas como biocontroladores de hongos fitopatógenos. *Revista Boliviana de Química*. 27, 33.

- Usha, K.; Singh, B.; Praseetha, P.; Deepa, N.; Agarwal, D. K.; Agarwal, R., y Nagaraja, A. 2009. Antifungal activity of *Datura stramonium*, *Calotropis gigantea* and *Azadirachta indica* against *Fusarium mangiferae* and floral malformation in mango. *European journal of plant pathology*, 124(4), 637-657.
- Valares M. C. 2011. Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente. Tesis doctoral. Universidad de Extremadura, Badajoz, España. 216 p.
- Velluti, A.; Marín, S.; Gonzalez, P.; Ramos, A. J., y Sanchis, V. 2004. Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. graminearum* on maize-based agar media. *Food microbiology*, 21(6), 649-656.
- Vidhyasekaran, P. 2010. Fungal pathogenesis in plants and crops: molecular biology and host defense mechanisms. CRC Press. 499 p.
- Wagacha, J. M., y Muthomi, J. W. 2007. *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection*, 26(7), 877-885.
- Wang, X. G.; Wei, X. Y.; Tian, Y. Q.; Shen, L. T., y Xu, H. H. 2010. Antifungal Flavonoids from *Ficus sarmentosa* var. *henryi* (King) Corner. *Agricultural Sciences in China*, 9(5), 690-694.
- Zhou, B. L.; Yao, T.; Zhang, J., y Ye, X. L. 2009. Effects of Flavonoids of *Sophora flavescens* to *Fusarium* Wilt and Resistance Physiology of Cucumber [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 6, 018.