



9CFE-1507

Actas del Noveno Congreso Forestal Español
Edita: **Sociedad Española de Ciencias Forestales. 2025.**
ISBN: 978-84-941695-7-1



Efecto in vitro de dos fungicidas biológicos comerciales *Trichoderma* spp. y *Aureobasidium* spp. frente a diversos hongos asociados a semillas y plántulas forestales.

MONREAL MONTOYA J.A. (1), PLAZA ÁLVAREZ P.A. (2), SERRANO GARCÍA P. (1), MORALES ROBLES P.R. (1), ARIAS CALDERÓN R. (1)

1. Dpto. de Producción Vegetal y Tecnología Agraria. ETSIAMB. Universidad de Castilla-La Mancha.
2. Dpto. de Ciencia y Tecnología Agroforestal y Genética. ETSIAMB. Universidad de Castilla-La Mancha.

Resumen

Las principales causas de la falta de salud de las plántulas en las instalaciones de producción de planta forestal son las micosis que producen la enfermedad de las semillas y jóvenes plántulas, cuyos efectos son el colapso de la semilla y el decaimiento del crecimiento en la plántula, usualmente producido por un ataque fúngico.

En este trabajo se estudia el efecto in vitro de dos fungicidas biológicos comerciales *Trichoderma* spp. (PROACTIV-SOIL) y *Aureobasidium* spp. (BOTECTOR) frente a diversos hongos asociados a semillas y plántulas forestales. Por una parte, se ha comprobado la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani*, patógeno de suelo, y por otra las posibilidades inhibitorias de *Aureobasidium* spp. sobre los hongos *Fusarium* spp. *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. hongos que pueden estar presentes habitualmente en lotes de semillas forestales.

Los aislamientos de *Trichoderma* spp. presentaron un rápido desarrollo, superando el crecimiento de *Rhizoctonia solani*, impidiendo el crecimiento normal e inhibiendo en más del 80% su desarrollo. *Aureobasidium* spp. demostró su potencial como agente de control biológico contra estos tres hongos fitopatógenos, disminuyendo su crecimiento de manera significativa en los enfrentamientos, destacando hasta en un 60% frente a *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp.

Palabras clave

Control biológico, patologías fúngicas, producción de planta

1. Introducción

Los mayores problemas de supervivencia que sufre la planta forestal se presentan durante los primeros años de su existencia y particularmente en el período en que se encuentra en el vivero y en los meses posteriores a su plantación.

Las principales causas de la falta de salud de las plántulas en las instalaciones de producción son las micosis que producen la enfermedad de las semillas y jóvenes plántulas, cuyos efectos son el colapso de la semilla, la ausencia de germinación y el decaimiento del crecimiento de la plántula, usualmente producido por un ataque fúngico (SARMIENTO-LÓPEZ, 2024).

En la producción de planta forestal en los viveros se pueden encontrar diferentes situaciones que requerirán soluciones diferentes, algunos problemas estarán ligados a las propias características del patógeno, pero otras pueden estar directamente relacionadas con la manipulación del material vegetal, sustratos y



envases (BELLO, 1988).

Los fenómenos que se pueden registrar durante los primeros momentos del desarrollo de las plantas procedentes de semilla se pueden diferenciar en dos: i) ausencia o parada del crecimiento germinativo, y ii) muerte de las plántulas. Cuando la planta va a pasar varios periodos vegetativos en el vivero puede aparecer otro fenómeno más, llamado colapso tardío (SOLDEVILLA *et al.*, 1995).

Cuando el daño se localiza en las radículas, la mayor parte de las veces está asociado a hongos de suelo, como *Rhizoctonia solani*. Sin embargo, cuando los hongos van acompañando a las semillas entonces se habla de micoflora externa o interna (GUÉDEZ *et al.*, 2009). Algunos hongos que pueden estar presentes en este caso son *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Rhizopus* spp. y *Penicillium* spp. entre otros, algunos con carácter saprófito, pero que pueden causar problemas en el almacenaje de lotes de semillas (MUÑOZ, 1997).

Todos estos problemas hacen que sea importante la protección de las semillas y jóvenes plántulas en los viveros, por una parte, a través de una buena selección del material vegetal o desinfectando las semillas y esquejes, y por otra trabajando con sustratos y envases libres de inóculos fúngicos (PÉREZ Y GARCÍA, 2021). La posibilidad que nos ofrecen en este sentido los fungicidas biológicos puede ser de gran interés para el control y reducción de los daños ocasionados por micosis, como alternativa sostenible frente al uso de productos químicos contra estos problemas fitopatológicos en semillas y plántulas forestales (ZIN AND BADALUDDIN, 2020).

2. Objetivos

En este trabajo se estudia el efecto in vitro de dos fungicidas biológicos comerciales *Trichoderma* spp. y *Aureobasidium* spp. frente a diversos hongos asociados a semillas y plántulas forestales. Por una parte, se ha comprobado la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani*, patógeno de suelo, y por otra las posibilidades inhibitorias de *Aureobasidium* spp. sobre los hongos *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp., hongos que pueden estar presentes habitualmente en lotes de semillas forestales.

3. Metodología

Los experimentos se realizaron en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes y Biotecnología localizado en el campus de Albacete.

3.1. Ensayo con *Trichoderma* spp.

La cepa de *Rhizoctonia solani* empleada en el experimento forma parte de la colección de la Unidad Docente de Sanidad Vegetal de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes y Biotecnología. Las cepas del antagonista utilizadas en el ensayo parten de un preparado comercial que presenta dos especies de *Trichoderma*, *Trichoderma asperellum* (cepa T25) y *Trichoderma*

atroviride (cepa T11) que se encuentran al 50% cada una.

El medio de cultivo utilizado fue Patata-Dextrosa-Agar (PDA). Para el experimento se empleó un sacabocados de 10 mm de diámetro con el fin de obtener los discos de micelio empleados en el estudio. Para monitorear el crecimiento radial de *Trichoderma* spp. y de *R. solani*, así como los enfrentamientos duales de *Trichoderma* spp. sobre *R. solani* se recurrió a una regla milimetrada y a un calibre para obtener medidas más precisas (OSORIO-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016).

Para el diseño experimental se realizó un cultivo *in vitro* con los hongos *Trichoderma* spp. y *R. solani*. Para ello se colocaron, por una parte, los discos de micelio extraídos con el sacabocados en el centro de la placa de 90 mm de diámetro para el caso de los dos hongos aislados y por otra, dos discos enfrentados de dichos hongos a una distancia de 6 cm. En un extremo se colocó un disco de *Trichoderma* spp. y en el otro extremo se colocó un disco de *R. solani*. Todo el procedimiento de siembra se realizó en una cabina de flujo laminar en condiciones asépticas. Se realizaron cinco réplicas de cada hongo por separado y cinco réplicas para los enfrentamientos duales, obteniendo un total de quince placas y adicionalmente una placa testigo para verificar la esterilidad del medio. Las placas se incubaron en una estufa a una temperatura de 24 °C.

El antagonismo de *Trichoderma* spp. se estudió teniendo en cuenta las variables radio de crecimiento del antagonista y del patógeno, tanto en solitario como en enfrentamiento dual entre *Trichoderma* spp. y *R. solani* y calculando el porcentaje de inhibición del crecimiento radial. Se han podido observar diversos mecanismos de acción de *Trichoderma* spp. como la competencia por el sustrato, micoparasitismo y antibiosis.

Se tomaron medidas del crecimiento de los hongos cada tres días hasta que las cepas cubrieron el área total de la placa, determinándose el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR). El porcentaje se calcula utilizando la siguiente fórmula de (SUÁREZ MEZA *et al.*, 2008).

$$PICR = \frac{R1 - R2}{R1} * 100$$

Donde R1 es el crecimiento radial (cm) del fitopatógeno *Rhizoctonia solani* creciendo sin el antagonista y R2 es el crecimiento radial (cm) del mismo hongo en enfrentamiento con la cepa antagonista de *Trichoderma* spp.

3.2 Ensayo con *Aureobasidium* spp.

El medio de cultivo utilizado fue Patata-Dextrosa-Agar (PDA). Para la siembra se empleó un sacabocados de 8 mm de diámetro para todos los enfrentamientos y testigos con el fin de obtener discos de micelio homogéneos empleados en las siembras. A su vez, para realizar el seguimiento del crecimiento radial de los controles y de los enfrentamientos duales se empleó un calibre electrónico.

Para cada enfrentamiento se utilizaron 5 placas Petri (repeticiones técnicas). Teniendo en cuenta que se probó el ACB frente a 3 hongos fitopatógenos, contamos



con 15 enfrentamientos en placas Petri. Además, para poder comparar el crecimiento de los distintos hongos con y sin el ACB, se sembraron 5 placas testigo para cada hongo (incluido el ACB); por lo que se dispuso de 20 placas testigo, sumando un total de 35 placas. Adicionalmente, se dejaron dos placas testigo para cerciorarnos de la esterilidad del medio.

Los hongos fitopatógenos procedían de la colección de la Unidad Docente de Sanidad Vegetal de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes y Biotecnología, mientras que como antagonista se empleó una variedad comercial de *Aureobasidium pullulans*, comercializada bajo el nombre de “Botector”.

Para el ensayo se realizó un cultivo in vitro con los hongos *A. pullulans*, *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. Para los controles se colocaron los discos de micelio extraídos con el sacabocados en el centro de la placa de 90 mm de diámetro. Para los enfrentamientos, se colocaron dos discos de los hongos correspondientes a una distancia de 1,5 cm del borde de la placa. En un extremo colocamos el disco de *A. pullulans* comercial y en el opuesto el de uno de los hongos fitopatógenos (*Fusarium* spp, *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp.).

El procedimiento de siembra en su totalidad se realizó en una cabina de flujo laminar para garantizar condiciones asépticas. Las placas se incubaron en una estufa a una temperatura de 24 °C.

La inhibición de *A. pullulans* se estudió teniendo en cuenta el radio de crecimiento del ACB y del fitopatógeno, tanto en solitario como en los enfrentamientos duales. Para el cálculo del porcentaje de inhibición se utilizó el mismo procedimiento que en el ensayo con *Trichoderma* spp.

3.3 Análisis estadístico

Para evaluar la eficacia de los agentes de control biológico *Trichoderma* spp. y *Aureobasidium pullulans* frente a hongos fitopatógenos, se analizaron los datos del crecimiento radial (cm) de las colonias fúngicas y se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), de acuerdo con la fórmula propuesta por Suárez Meza et al. (2008). Las variables analizadas incluyeron el tipo de enfrentamiento (en solitario o en competencia), la especie fúngica y el tiempo de incubación.

Los datos se analizaron con el software IBM SPSS Statistics 28.0.0.0 (190). Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para identificar diferencias significativas ($p \leq .05$) entre tratamientos, considerando los factores: tipo de enfrentamiento (control o competencia), especie fúngica y tiempo de incubación.

Como pruebas post hoc se utilizaron el método de Holm-Sidak y el test de Fisher-LSD, con el fin de comparar medias entre grupos y determinar diferencias específicas entre tratamientos.

4. Resultados y discusión

Los resultados indican que todas las cepas de *Trichoderma* spp. han reducido significativamente el tamaño de las colonias de *R. solani*, resultados que concuerdan con otros trabajos (ABBAS et al., 2017).

Los aislamientos de *Trichoderma* spp. presentaron un rápido desarrollo, superando el crecimiento de *R. solani*, impidiendo el desenvolvimiento normal e inhibiendo en más del 80% su crecimiento). Para el establecimiento de los

porcentajes de inhibición, se ha usado la categorización de nivel de control según la Tabla 1.

El porcentaje de inhibición de las cepas de *Trichoderma* spp. ha sido del 85-100% (Figura 1), por tanto, presenta un nivel de control Alto. El antagonista presenta un gran potencial de competencia, ya que su crecimiento es mucho más rápido que el del patógeno.

Tabla 1. Nivel de control según el porcentaje de inhibición

% de inhibición	Nivel de control
0-25	Muy bajo
26-50	Bajo
51-75	Medio
76-100	Alto

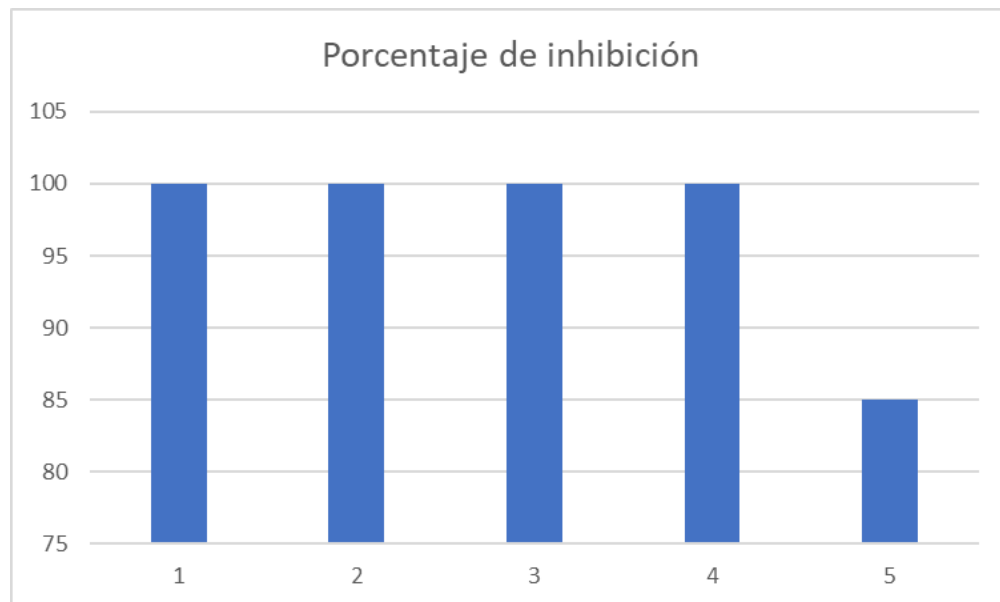


Figura 1. Porcentaje de inhibición de *Trichoderma* spp. frente a *R. solani* en las 5 réplicas realizadas.

Las medidas tomadas que se reflejan en la Tabla 2, muestran un rápido crecimiento de las cepas de *Trichoderma* spp. frente a *R. solani* y que a los tres días de cultivo ya cubría casi la totalidad de la placa.

Tabla 2. Seguimiento del crecimiento radial (cm) de los hongos *Trichoderma* spp. y *Rhizoctonia solani* en solitario y enfrentados durante los tres días muestreados posteriores al inicio del ensayo (D1, D2 y D3, respectivamente).

Colonia		Crecimiento radial (cm)
D1	D2	D3

<i>Trichoderma 1</i>	4,1	4,1			4,2		
<i>Trichoderma 2</i>	3,8	3,8			3,9		
<i>Trichoderma 3</i>	4	4			4,1		
<i>Trichoderma 4</i>	4,1	4,1			4,2		
<i>Trichoderma 5</i>	4,1	4,1			4,2		
<i>R. solani 1</i>	3,6	4			4,1		
<i>R. solani 2</i>	3,1	4			4,1		
<i>R. solani 3</i>	3,4	3,9			4		
<i>R. solani 4</i>	3,2	4,2			4,2		
<i>R. solani 5</i>	3,3	4			4,1		
<i>R.solani 1</i>	<i>Trichoderma 1</i>	2,1	3,4	1,3	4,2		6
<i>R.solani 2</i>	<i>Trichoderma 2</i>	3,5	1,9	1,8	3,6		6
<i>R.solani 3</i>	<i>Trichoderma 3</i>	1,7	3,6	1,1	5,2		6
<i>R.solani 4</i>	<i>Trichoderma 4</i>	1,7	3,7	1,7	5,8		6
<i>R.solani 5</i>	<i>Trichoderma 5</i>	2,2	3,3	0,7	4,7	0,6	5,3

Una vez registrado el crecimiento de los hongos en placa se realizó una transformación de los datos a una escala de capacidad antagónica (Tabla 3). El grado de antagonismo de *Trichoderma* spp. se midió empleando la escala utilizada por BELL et al. (1982) en el que la capacidad inhibitoria se clasifica en 5 grupos. Las cepas de *Trichoderma* se ubican en los grupos 1 y 2, por tal razón, presentan un alto grado de capacidad antagónica sobre *R. solani* (INFANTE et al., 2019).

Tabla 3. Escala de capacidad antagónica in vitro para *Trichoderma* spp. de Baker y Cook (1982)

Grados en la escala	Características del grado			
Grado 1	<i>Trichoderma</i>	spp	.	crece completamente sobre la colonia del patógeno y cubre la superficie del medio de cultivo
Grado 2	<i>Trichoderma</i>	spp.	crece al menos sobre las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo	
Grado 3	<i>Trichoderma</i>	spp	.	y el patógeno cubren aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo
Grado 4	El patógeno crece al menos en las dos terceras partes del medio de cultivo limitando el crecimiento de		<i>Trichoderma</i>	spp
Grado 5	El patógeno crece sobre la colonia de		<i>Trichoderma</i>	spp

El análisis de la varianza (ANOVA) realizado indica que existen diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) entre las diferentes variables.

Aunque se detectó una tendencia a la diferencia de crecimiento con el paso de los días ($p = 0,053$), esta diferencia no alcanzó el nivel de significación estadística. En cambio, la influencia de la competencia y la especie fue significativa ($p < 0,01$), lo que refuerza la robustez de los efectos observados

También se ha representado gráficamente el crecimiento (cm) de *Trichoderma* spp. y *R. solani* tanto en solitario como en competencia los dos primeros días (Figura 2). Como se puede apreciar, la diferencia de crecimiento entre los días no es muy destacable, pero se nota más cuando comparamos las dos especies de hongos.

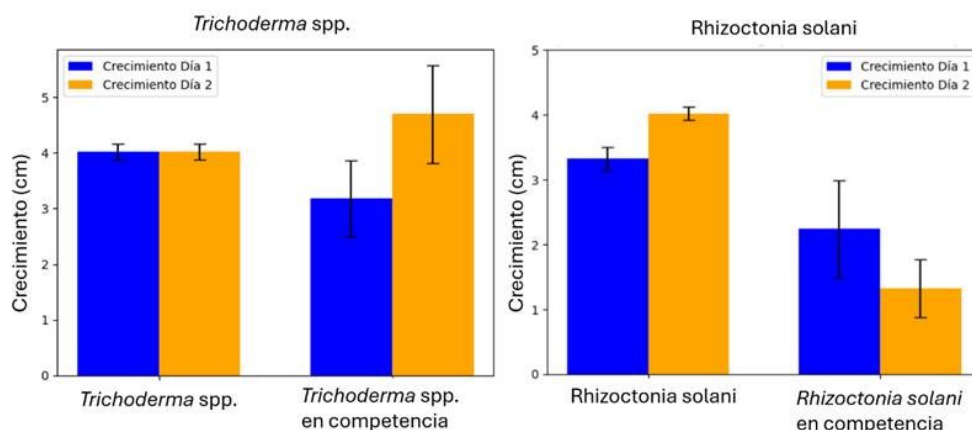


Figura 2.

Trichoderma

Rhizoctonia solani

En el ensayo de *Aureobasidium* spp. R1 representa el crecimiento radial (cm) del fitopatógeno correspondiente creciendo sin el ACB y R2 es el crecimiento radial (cm) del mismo hongo en enfrentamiento con la cepa antagonista de *A. pullulans*.

El PICR de la cepa comercial de *A. pullulans* frente a *Fusarium* spp. ha sido de entre



un 12,76 % y un 9,51%, frente a *Aspergillus* spp. ha oscilado entre el 15,86% y el 0,48% y frente a *Penicillium* spp. ha sido de entre un 27,09% y un 9,18%. Como se observa, el PICR de *Fusarium* spp. es más homogéneo que el de los otros dos, que oscila entre valores más distantes. Esto se debe a que la velocidad de crecimiento de *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. puede ser muy superior a la de *A. pullulans* y su patrón de propagación es diferente, ocupando más superficie en menos tiempo y dándole una forma muy irregular (difícil de medir). Todo ello hace que el ACB no pueda actuar a tiempo, aunque sí se observe cierta inhibición (IQBAL, et al., 2022).

En cultivo solitario, *A. pullulans* alcanza aproximadamente el 50 % de cobertura de placa a los 10 días; sin embargo, cuando se enfrenta a los fitopatógenos, su crecimiento se reduce a un 73%, 91 % y 69 % en los enfrentamientos con *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. y *Fusarium* spp., respectivamente. Esta disminución indica que el antagonista, al crecer más lentamente, tiene menos tiempo para ejercer su efecto inhibitor, lo que en parte se refleja en los valores del PICR.

El nivel de control ejercido por *A. pullulans* es muy bajo para *Fusarium* spp. y *Aspergillus* spp. y entre bajo y muy bajo para *Penicillium* spp. En un futuro, para obtener resultados más significativos se podría probar añadiendo algún elemento adicional a los enfrentamientos que, o bien potencie el ACB, o bien inhiba parcialmente a los fitopatógenos con el fin de igualar sus velocidades de crecimiento.

Los resultados obtenidos de los enfrentamientos en placa de la cepa comercial “Botector” de *A. pullulans* frente a *Fusarium* spp, *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. mostraron que *A. pullulans* puede tener potencial como agente de control biológico contra estos tres hongos fitopatógenos, disminuyendo su propagación en los enfrentamientos (en comparación con las placas testigo). El ritmo de crecimiento de *A. pullulans* y *Fusarium* spp. es algo más lento que el de *Penicillium* spp. y, sobre todo, el de *Aspergillus* spp., por lo que inicialmente parecía que el ACB no sería capaz de ejercer su función inhibitora a tiempo contra este último. Por el contrario, a partir del quinto día de seguimiento y a pesar de haberse propagado ampliamente por la placa, pudimos observar el halo de inhibición generado por *A. pullulans* contra *Aspergillus* spp. (PODGÓRSKA-KRYSZCZUK, 2023). De igual forma, se pudo observar una clara inhibición del crecimiento de *Fusarium* spp. y de *Penicillium* spp. Sin embargo, el lento desarrollo de *A. pullulans* (tal y como se sospechaba en un inicio) en comparación con sus competidores fitopatógenos hace que la inhibición no sea significativa, aunque sí apreciable a simple vista. Sin duda este hecho es uno de los factores a optimizar en ensayos futuros (Figura 3). La figura 4 muestra un diagrama de cajas y bigotes con el porcentaje de ocupación relativo en cada enfrentamiento en el último día de observación.

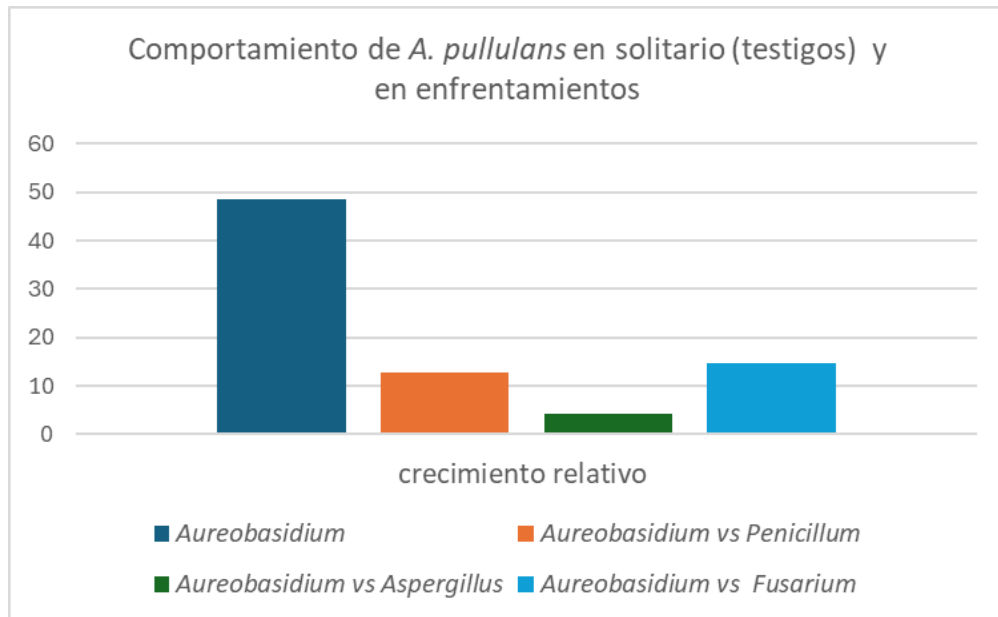


Figura 3. Crecimiento relativo de *A. pullulans* in vitro, aislado y en enfrentamientos

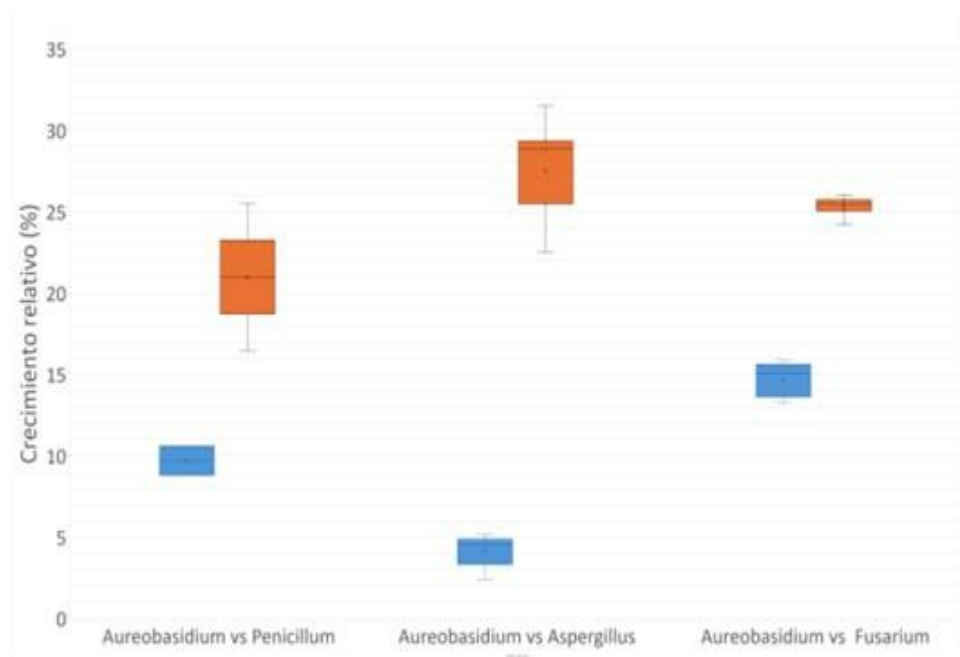


Figura 4. Diagrama de cajas y bigotes que muestra el porcentaje de ocupación relativo de la placa por cada hongo en los enfrentamientos en el último día de medición. En azul se observan los datos correspondientes a *A. pullulans* en cada enfrentamiento y en naranja, los datos del fitopatógeno contra el que se enfrenta en cada caso.

Como discusión, en contraste con los resultados obtenidos en este trabajo, otros estudios han reportado que una cepa autóctona de *Aureobasidium spp.* mostró mayor eficacia que el producto comercial (GALLI et al., 2021), lo que evidencia la importancia de la competición por espacio y nutrientes como mecanismo principal de acción antifúngica.



En el análisis de la varianza (ANOVA) para el crecimiento relativo, se encontró que las diferencias en los valores medios entre los grupos de tratamiento fueron mayores de lo esperado por azar, con una significación estadística de $P < 0,001$.

Posteriormente, el test de comparación múltiple por pares (método de Holm-Sidak) mostró que todas las comparaciones entre enfrentamientos y entre testigos y enfrentamientos resultaron significativamente diferentes ($p < 0,001$), excepto en la comparación entre los crecimientos relativos de *A. pullulans* en el enfrentamiento 3 y en el enfrentamiento 1 ($p = 0,629$), lo que se atribuye al mayor crecimiento observado frente a *Fusarium spp.*

Cuando se trata de los datos de PICR, el análisis nos indica que las diferencias en los valores medios entre los grupos de enfrentamientos son mayores de lo que se esperaría por azar; hay una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0,016$). Un posterior análisis de medias por el método Fisher- LSD, nos indica que hay diferencias significativas entre los enfrentamientos de *A. pullulans* vs. *Penicillium spp* y entre *A. pullulans* y *Fusarium spp.* no habiendo diferencias significativas entre los enfrentamientos de *A. pullulans* vs. *Aspergillus spp.*

Para otros autores, el uso de cepas autóctonas de *A. pullulans* es más sostenible y amigable con el medio ambiente que el uso de fungicidas químicos, aunque debe ser desarrollado y explorado a fondo (GALLI et al., 2021). Esto abre una nueva línea de investigación, ¿será el *A. pullulans* presente en nuestros suelos de forma natural un potente agente de control biológico mucho más adaptado a las características de la región?

Se conoce también que además de ser un potente agente de control biológico contra distintas especies fúngicas (efecto fungistático y antifúngico), *A. pullulans* es productor de un amplio rango de sustancias naturales, cuyo potencial en el ámbito biotecnológico ha sido muy estudiado (PRASONGSUK et al., 2018).

Además, recientemente se ha descrito (RENSINK et al., 2024) que *A. pullulans* puede presentar actividad antimicrobiana contra bacterias Gram + y Gram -. Otras aplicaciones biotecnológicas de *Aureobasidium spp.* se centran en el ámbito industrial, como es la producción de enzimas con aplicaciones industriales (amilasas, celulasas, lipasas, proteasas, xilanasas y mananasas).

Se puede afirmar, por tanto, que en el caso de *Aureobasidium spp.* también se detectó, aunque en menor medida, su potencial como agente de control biológico contra estos tres hongos fitopatógenos, disminuyendo su crecimiento en los enfrentamientos (en comparación con las placas testigo).

5. Conclusiones

En este estudio se ha demostrado que *Trichoderma spp.* tiene un gran potencial como agente de control biológico. Los aislamientos de *Trichoderma spp.*, superaron el crecimiento de *R. solani*, impidiendo el desenvolvimiento normal e inhibiendo su desarrollo. Se han confirmado algunos mecanismos de acción que posee *Trichoderma spp.* frente a hongos fitopatógenos como son la capacidad antagónica, destacando la competencia de nutrientes y espacio.

El uso del hongo *Trichoderma spp.* para el control biológico de enfermedades de plantas es un planteamiento efectivo a largo plazo. Es necesario estudiar la adaptación del microorganismo al ambiente, así como la aclimatación en los



ecosistemas. Se trata de una alternativa diferente al uso de productos químicos, dañinos para el medio ambiente, y que pretende brindar mayor seguridad a productores y consumidores.

Estudios futuros podrían complementar los resultados obtenidos en este trabajo y plantear tanto estudios *in vitro*, ensayos en campo y caracterización molecular de otras cepas autóctonas de *A. pullulans* con el fin de encontrar o diseñar un ACB de eficacia significativa para hongos fitopatógenos.

Por otro lado, evaluar los tiempos de crecimiento de los distintos hongos también parece de gran interés con el objetivo de encontrar el momento óptimo de enfrentar los hongos fitopatógenos con *A. pullulans*.

A su vez, sería interesante probar herramientas de análisis de imagen sobre fotografías a las placas diariamente con el fin de obtener datos y posteriores análisis de las imágenes con mayor precisión, especialmente trabajando con hongos que muestren un patrón de crecimiento irregular.

6. Bibliografía

Abbas, A., Jiang, D. & Fu, Y. 2017. *Trichoderma* spp. as antagonist of *Rhizoctonia solani*. J. Plant Pathol. Microbiol. **8(3)**, 402. doi:10.4172/2157-7471.1000402

Bell, D. K., H. D. Wells, H.D. & Markham, C.R. 1982. In Vitro Antagonism of *Trichoderma* Species Against Six Fungal Plant Pathogens. *Phytopathology*, 72:379-382.

Bello, A. 1998. Estructura ecológica del suelo y su interés en protección vegetal. Actas de las Jornadas de Fitopatología: el suelo en la patología vegetal. Toledo. 9-22.

Galli, V., Romboli, Y., Barbato, D., Mari, E., Venturi, M., Guerrini, S. & Granchi, L. (2021). Indigenous *Aureobasidium pullulans* strains as biocontrol agents of *Botrytis cinerea* on grape berries. *Sustainability (Switzerland)*, 13 (16). <https://doi.org/10.3390/su13169389>

Guédez, C., Cañizalez, L. M., Castillo, C., & Olivar, R. (2009). *Micoflora asociada a dos sustratos orgánicos y su efecto en el control de Rhizoctonia solani Kühn*. *Agronomía Colombiana*, 27(3), 355-362.

Infante Martínez, D. y Martínez Coca, B., 2019. Actividad antagónica de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre aislados de diferentes grupos anastomóticos de *Rhizoctonia solani* Kühn 34, 1-7.

Iqbal, M., Jutzeler, M., França, S. C., Wackers, F., Andreasson, E. & Stenberg, J. A. (2022). Bee-Vectored *Aureobasidium pullulans* for Biological Control of Gray Mold in Strawberry. *Phytopathology*, 112 (2), 232-237. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-21-0205-R>

Muñoz, C. 1997. Problemática fitosanitaria en viveros para producción de planta para repoblaciones forestales. En Orozco, E. y Monreal, J.A. (Coord.): Forestación en tierras agrícolas, Universidad de Castilla-La Mancha. Cuenca. 272-280.

Osorio-Hernández, E., Hernández-Castillo, F.D., Rodríguez-Herrera, R., Varela-Fuentes, S.E., Estrada-Drouaillet, B. y López-Santillán, J.A., 2016. Actividad antagónica de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia solani* *in vitro*. *Investig. y Cienc.*



la Univ. Autónoma Aguascalientes 5–11.

Pérez, L. M., & García, J. A. (2021). *Estrategias de manejo integrado para la protección de semillas y plántulas en viveros forestales*. Revista de Fitopatología, 39(2), 123-135.

Pérez-González, J. O., Ramírez-Rojas, S. G., Rocha-Rodríguez, R., Ornelas-Ocampo, K., Paulino Vázquez-Alvarado, J. M., & Hernández-Guzmán, F. J. (2023). *Antagonismo in vitro de Trichoderma frente a Rhizoctonia solani*. Revista Mexicana de Fitopatología, 41(3), 514-523.

Podgórska-Kryszczuk, I. (2023). Biological Control of *Aspergillus flavus* by the Yeast *Aureobasidium pullulans* In Vitro and on Tomato Fruit. *Plants*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/plants12020236>

Prasongsuk, S., Lotrakul, P., Ali, I., Bankeeree, W. & Punnapayak, H., 2018. The current status of *Aureobasidium pullulans* in biotechnology. *Folia Microbiol (Praha)*.

Rensink, S., Van Nieuwenhuijzen, E. J., Sailer, M. F., Struck, C. & Wösten, H. A. B. (2024). Use of *Aureobasidium* in a sustainable economy. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 108, Issue 1). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13025-5>

Sarmiento López, H. (2024). Control de hongos causantes del damping-off (enfermedad de almácigo) *in vitro* y en un vivero forestal por extractos de plantas del estado de Durango. Tesis doctoral Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas.

Soldevilla, C. 1995. Marras de origen fúngico (Damping-off) en plantas del género *Pinus* spp. cultivadas en invernadero. *Bol. San. Veg. Plagas*, 21: 87-109.

Suárez Meza, C.L., Fernández Barbosa, R.J., Valero, N.O., Gámez Carrillo, R. M. y Páez Redondo, A.R., 2008. Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 10, 35–43.

Zin, N.A. & Badaluddin, N.A., 2020. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Ann. Agric. Sci.* 65, 168–178.