



9CFE-1699

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

Organiza





Efecto de fungicidas químicos, biológicos y extractos vegetales en el crecimiento *in vitro* de aislados fúngicos que pueden comprometer la germinación en semillas de pino

Carmen Romeralo¹, Rosa Raposo¹, Laura Hernández-Escribano¹, Nieves Herrero Sierra², Rubén Mondelo Falcón², Cruz Anegón Esteban², Ricardo Alía¹, Felipe Pérez Martín²

¹ Instituto de Ciencias Forestales, INIA-CSIC, Madrid

² Área de Recursos Genéticos Forestales, Subdirección General de Política Forestal y Lucha contra la Desertificación, Dirección General de Biodiversidad, Bosques y Desertificación, Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico

Correo: carmen.romeralo@inia.csic.es

La producción de planta en viveros forestales es esencial para la conservación y reforestación. Sin embargo, la presencia de hongos patógenos puede afectar la viabilidad y la germinación y comprometer por tanto la producción. Este estudio se desarrolló con varios lotes de semillas de diferentes especies de pinos procedentes de huertos semilleros del Centro Nacional de Recursos Genéticos Forestales de Valsaín que presentaron un descenso en su tasa de germinación en los últimos años. El primer objetivo fue analizar la composición de hongos asociados para saber si alguna especie patógena podría estar afectando su germinación. El segundo objetivo fue evaluar el efecto de diferentes fungicidas químicos, biológicos y extractos vegetales en el crecimiento *in vitro* de las especies más abundantes. Los resultados mostraron presencia de *Sydowia polyspora*, *Microsphaeropsis olivacea* y *Alternaria alternata*, como especies más frecuentes en los análisis de las semillas. Además, se evaluó el efecto de siete tratamientos (e.g. tebuconazol, oxiclورو de cobre, extractos de tomillo, eucalipto, menta y *Trichoderma* spp.) en tres dosis cada uno. Los resultados mostraron que los fungicidas a base de tebuconazol, tomillo y *Trichoderma harzianum* fueron los más efectivos en reducir los crecimientos de los hongos proporcionando alternativas sostenibles en el control de patógenos.

Palabras clave: germinación, semillas, hongos patógenos

1. Introducción

La producción de plantas en viveros forestales es fundamental para la conservación y la reforestación, ya que constituyen la base de numerosos ecosistemas terrestres. Estas plantas, cultivadas en condiciones controladas, son esenciales para implementar con éxito programas de restauración contribuyendo a la creación de ecosistemas sostenibles y resilientes (HAASE & DAVIS, 2017). Sin embargo, la presencia de hongos patógenos en las semillas puede afectar la viabilidad y la germinación y comprometer por tanto la producción. Las semillas

de gimnospermas portan, tanto externa como internamente, una serie de hongos que pueden o no transmitirse a las plantas que crecen a partir de las semillas. Algunos de estos hongos causan enfermedades de las semillas, como por ejemplo la pudrición de las mismas, pero tienen efectos menores en otras etapas de desarrollo de los árboles (CLEARY ET AL. 2019). Por ejemplo, el *damping-off* (Figura 1) engloba a un conjunto de enfermedades fúngicas (causadas por múltiples agentes) que causa mortalidad durante las primeras semanas después de la germinación (HARTLEY, 1921). Los hongos asociados a la enfermedad no suelen ser específicos y, en el caso de que el *damping off* sea post-emergente, causan un deterioro y mortalidad de las plántulas (LILJA ET AL. 2010). En el caso de que sea pre-emergente es aún más difícil de diagnosticar porque las semillas no son viables y no llegan a germinar, por lo que no se sabe si es por falta de embrión viable o por presencia de agentes bióticos patógenos (LANDIS, 2013).

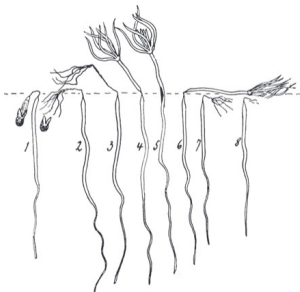


Figura 1: A la izquierda, síntomas de “damping-off” en plántulas en germinación (de LANDIS, 2013). A la derecha, germinación de uno de los lotes de estudio con los síntomas de marchitez observados.

El control de enfermedades en viveros forestales incluye diferentes prácticas que buscan prevenir y manejar la incidencia de patógenos y suelen englobar control cultural, químico y biológico (AGRIOS, 2010). El control cultural se centra en prácticas como la desinfección de herramientas, el manejo adecuado del riego y el control de la temperatura de las cámaras, creando condiciones desfavorables para



los patógenos. El control químico emplea fungicidas protectores y sistémicos, además de desinfectantes para eliminar organismos en sustratos y superficies. En el caso de las enfermedades producidas por hongos, el término fungicida se utiliza en un sentido amplio para cualquier compuesto que mata o inactiva los hongos. La mayoría de estos compuestos se sintetizan químicamente, pero algunos son derivados modificados de compuestos naturales (DEACON, 2006).

Por último, el control biológico utiliza organismos beneficiosos, que inhiben el crecimiento del patógeno a través de diversos mecanismos, como la competición (por espacio y/o recursos), la antibiosis, el parasitismo o la activación del sistema defensivo de la planta (HEYDARI & PESSARAKLI, 2010). Algunos autores amplían la definición e incluyen no sólo el uso de microorganismos antagonistas sino también la aplicación de compuestos bioactivos de origen natural; y la inducción de resistencia natural de las plantas (TALIBI ET AL., 2014).

2. Objetivos

Este estudio se desarrolló con varios lotes de semillas de diferentes especies de pinos procedentes de huertos semilleros del Centro Nacional de Recursos Genéticos Forestales de Valsaín que presentaron un descenso en su tasa de germinación en los últimos años.

El primer objetivo fue analizar la composición de hongos asociados para saber si alguna especie patógena podría estar afectando su germinación. El segundo objetivo fue evaluar el efecto de diferentes fungicidas químicos, biológicos y extractos vegetales en diferentes dosis, en el crecimiento *in vitro* de las especies más abundantes encontradas en los análisis anteriores.

3. Metodología

3.1 Estudio de los hongos asociados

Para el estudio, se analizaron los siguientes lotes de semillas: *Pinus uncinata* (PU), *Pinus nigra* (PN), *Pinus sylvestris* Guadarrama (PS-G), y *Pinus sylvestris* Soria-Burgos (PS-SB).

Las piñas y las semillas (sin esterilizar) se pusieron en cámaras húmedas, y en medio de cultivo (se analizaron entre 30-100 piñas y 600 semillas por lote). Para las cámaras húmedas, las placas se mantuvieron a temperatura ambiente (22-25°C) hasta la aparición de los cuerpos de fructificación. Las estructuras de los hongos fueron analizadas y posteriormente identificadas según sus características morfológicas utilizando claves de especies. Las colonias emergentes de las semillas en medio de cultivo, se transfirieron a placas individuales. A continuación, se realizó la extracción de ADN genómico y la amplificación por PCR de la región ITS mediante cebadores universales para hongos (ITS1F-ITS4, WHITE ET AL. 1990).



Posteriormente se identificaron las secuencias comparándolas con la base de datos Genbank (similitud $\geq 97\%$).

3.2 Medición de los crecimientos *in vitro*

Para probar la eficacia de los fungicidas seleccionados se usaron cultivos puros de los hongos encontrados con más frecuencia en el análisis anterior. Los aislados se subcultivaron en PDA (patata dextrosa, agar) tres semanas antes de dar comienzo los experimentos para que el inóculo fuera fresco.

Se emplearon siete productos diferentes: Seedgard® con tebuconazol, Cuprosan® con Oxicloruro de cobre, extractos de tomillo, eucalipto y menta y dos productos comerciales de control biológico Triatum-P® con *Trichoderma harzianum*-T -22 y DonJon® con *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma gamsii*, en tres dosis diferentes (Tabla 1). Se preparó medio de cultivo PDA convencional al que se le añadieron los fungicidas una vez enfriado. El tratamiento control se realizó sólo con PDA. Se realizaron 5 réplicas de cada combinación de tratamiento.

Tabla 1: Tratamientos usados en el experimento

Producto comercial	Materia activa	Riqueza	Dosis	Marca
SeedGard®	Tebuconazol	25gr/L	D1 1mg/L D2 10mg/L D3 100mg/L	Kenogard
Cuprosan®	Oxicloruro de cobre	52%	D1 1mg/L D2 10mg/L D3 100mg/L	Bayer
DonJon®	<i>Trichoderma asperellum</i> <i>Trichoderma gamsii</i> ,	Puro	D1 1mg/L D2 10mg/L D3 100mg/L	Bayer
Trianium-P®	<i>Trichoderma harzianum</i> -T-22	Puro	D1 1mg/L D2 10mg/L D3 100mg/L	Koppert
Menta	Extracto de <i>Menta x piperita</i>	Aceite puro	D1 100µl/L D2 200µl/L D3 400µl/L	Pranarom
Eucalipto	Extracto de <i>Eucaliptus globulus</i>	Aceite puro	D1 100µl/L D2 200µl/L D3 400µl/L	Pranarom
Tomillo	Extracto de <i>Thymus</i> spp.	Aceite puro	D1 100µl/L D2 200µl/L D3 400µl/L	Pranarom

En cada una de las placas, se dibujaron 2 líneas perpendiculares y en el centro se colocó un disco de 2 mm de micelio de cada hongo (Figura 2). Posteriormente se almacenaron las placas a 25°C y se midió su crecimiento a intervalos regulares de 5-7 días durante un periodo de 4 a 6 semanas. Las placas sin tratamiento sirvieron de control. El crecimiento micelial se calculó en base el área de la elipse aproximada que ocupaba el micelio (Eq1). La inhibición del crecimiento se midió comparando las placas con tratamientos con las placas control.

Eq1: $\text{Área} = \pi * a * b$. (siendo a y b cada una de las líneas perpendiculares)



Figura 2: Ejemplos de medición de crecimiento micelial en placa Petri.

3.3. Análisis de los datos

Para evaluar el efecto de la dosis y el principio activo en el crecimiento micelial de cada uno de los hongos, se realizó un análisis de la varianza empleando como variable respuesta el área ocupada por el micelio al final del experimento (4 ó 6 semanas). Cuando la tabla ANOVA presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) se realizó un test de Tukey-Kramer de comparaciones múltiples para identificar qué tratamientos diferían de los controles. Todos los análisis se realizaron con los paquetes *dplyr*, *plyr* y *multcompView* y los resultados se visualizaron con el paquete *ggplot2* del programa estadístico R.

4. Resultados

4.1. Estudio de la comunidad fúngica

Se identificaron un total de 28 taxones asociados a los cuatro lotes de piñas y semillas estudiados. La Tabla 2 muestra la relación de los hongos identificados para cada tipo de material vegetal y especie estudiada.

Los hongos encontrados con más abundancia en el análisis fueron *Alternaria alternata*, *Microsphaeropsis olivácea* y *Sydowia polyspora*, que fueron los seleccionados para proceder con el análisis de crecimientos *in vitro*. Además, se encontraron otras especies con frecuencia, como fueron *Cladosporium* spp., *Epicoecum* sp., *Fusarium equiseti*, *Penicillium* sp. y *Trichothecium roseum*.

Tabla 2: Hongos obtenidos en el análisis en piñas y semillas de los diferentes lotes: *Pinus sylvestris* Guadarrama (PS-G), *Pinus sylvestris* Soria-Burgos (PS-SB), *Pinus nigra* (PN) y *Pinus uncinata* (PU).

MT 7: SANIDAD Y OTROS RIESGOS BIÓTICOS



Organismo	PIÑAS				SEMILLAS			
	PS-G	PS-SB	PN	PU	PS-G	PS-SB	PN	PU
<i>Alternaria alternata</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Cladosporium spp.</i>	X		X					
<i>Clonostachys rosea</i>			X					
<i>Cryptovalsa sp.</i>		X						
<i>Didymella macrostoma</i>					X			
<i>Dothiorella ibérica</i>	X			X				
<i>Epicoccum nigrum</i>					X			
<i>Epicoccum sp.</i>		X	X	X		X		X
<i>Fusarium acuminatum</i>	X			X		X	X	
<i>Fusarium avenaceum</i>		X						
<i>Fusarium brachygibbosum</i>							X	
<i>Fusarium clavum</i>				X				
<i>Fusarium equiseti</i>	X		X			X	X	X
<i>Fusarium lateritium</i>					X			
<i>Fusarium oxysporum</i>								X
<i>Fusarium proliferatum</i>							X	
<i>Fusarium tricinctum</i>				X				

<i>Hormone ma macrospor um</i>		X				
<i>Microspha eropsis olivacea</i>	X	X	X		X	X
<i>Penicilliu m sp.</i>	X	X			X	X
<i>Peniophor a cinerea</i>						X
<i>Pestalotio psis pini</i>					X	
<i>Phoma sp.</i>	X					
<i>Sydowia polyspora</i>	X				X	X
<i>Talaromyc es amestolkia e</i>					X	
<i>Thyronect ria sp.</i>				X		
<i>Trichothec ium roseum</i>	X	X	X			
<i>Valsonectr ia sp.</i>	X					

4.2. Medición de los crecimientos *in vitro*

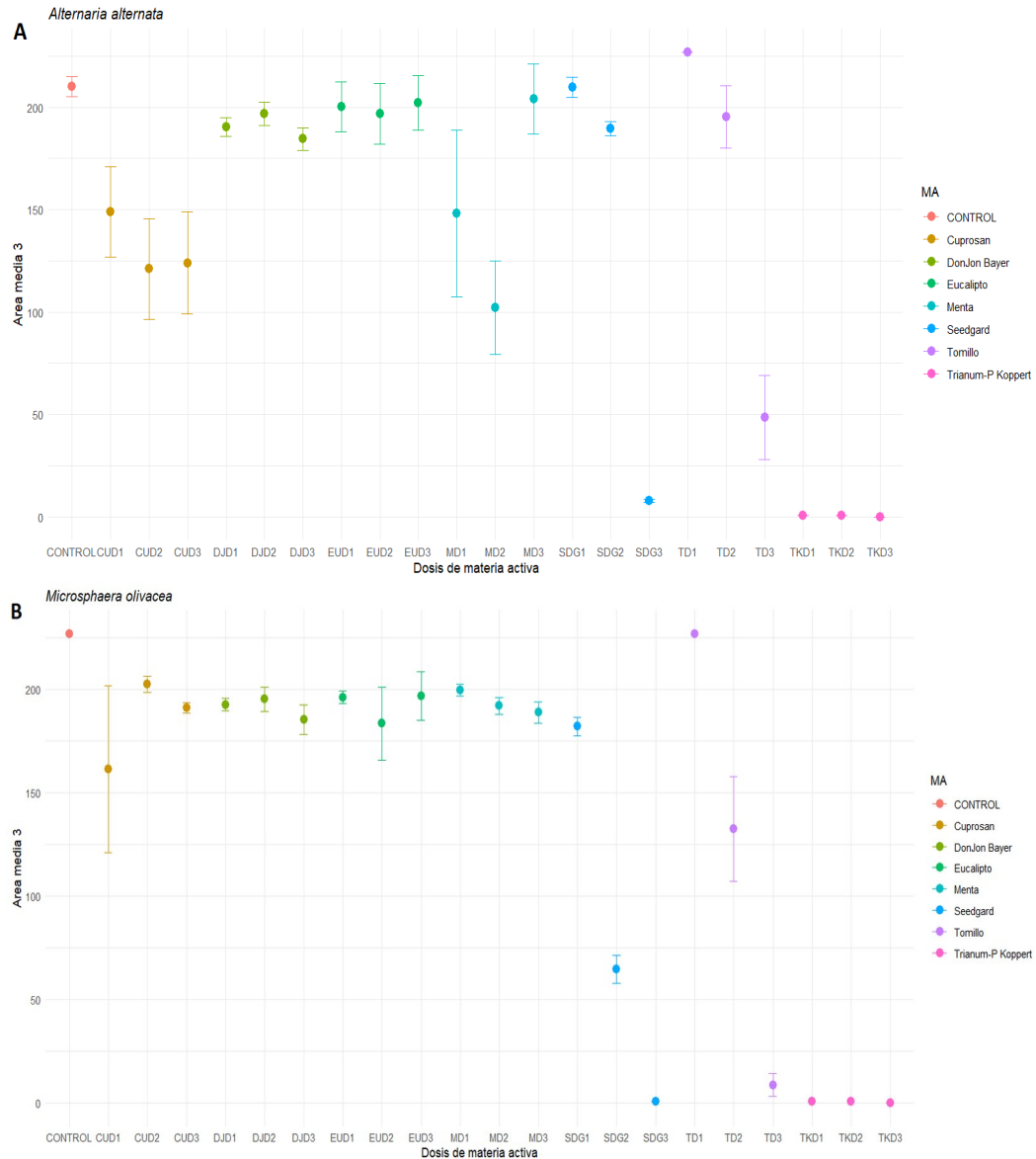
Para probar la eficacia de los fungicidas en la reducción del crecimiento micelial de los hongos encontrados, se compararon los crecimientos de las placas control con los que habían sido enmendados con los diferentes productos en diferentes dosis (Figura 3).

Para *Alternaria alternata* obtuvimos diferencias significativas entre el control y los tratamientos con Cuprosan dosis 2 y dosis 3, con aceite esencial de menta en la dosis 2, y con SeedGard® en la dosis 3 (Figura 4), con aceite esencial de tomillo en la dosis 3 y con Triam-P® para todas las dosis (Figura 3A).

Para *Microsphaeropsis olivacea* obtuvimos diferencias significativas entre los crecimientos de las placas control y las que habían sido enmendadas con Cupresan

dosis 1, con SeedGard® en las dosis 2 y 3 (Figura 4), con aceite esencial de tomillo en las dosis 2 y 3, y con Trianum-P® para todas las dosis (Figura 3B).

Finalmente, para los cultivos de *Sydowia polyspora* obtuvimos diferencias significativas entre el crecimiento medio de las placas control y las placas que habían recibido los tratamientos de aceite esencial de menta en la dosis 1, y SeedGard®, aceite esencial de tomillo y Trianum-P® en las tres dosis (Figura 3C).



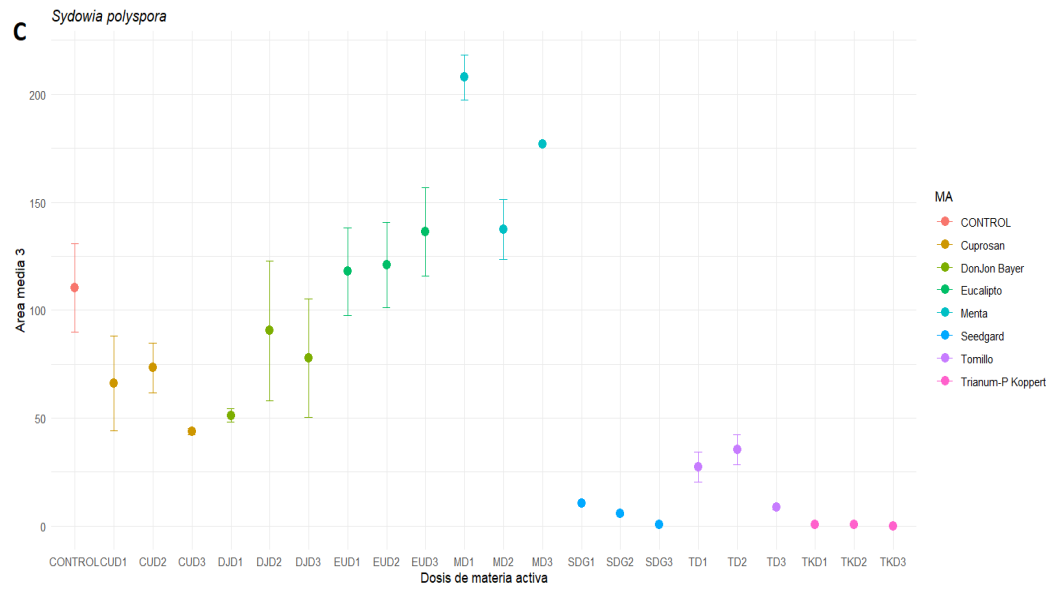
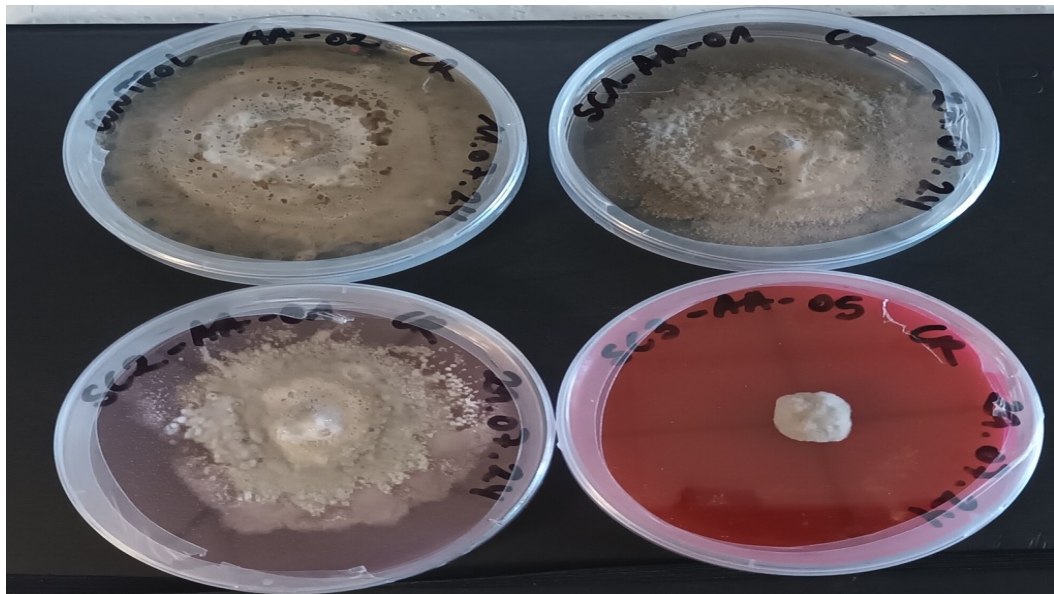


Figura 3: Crecimientos medios ($\pm$ error estándar) de cada uno de los tratamientos.



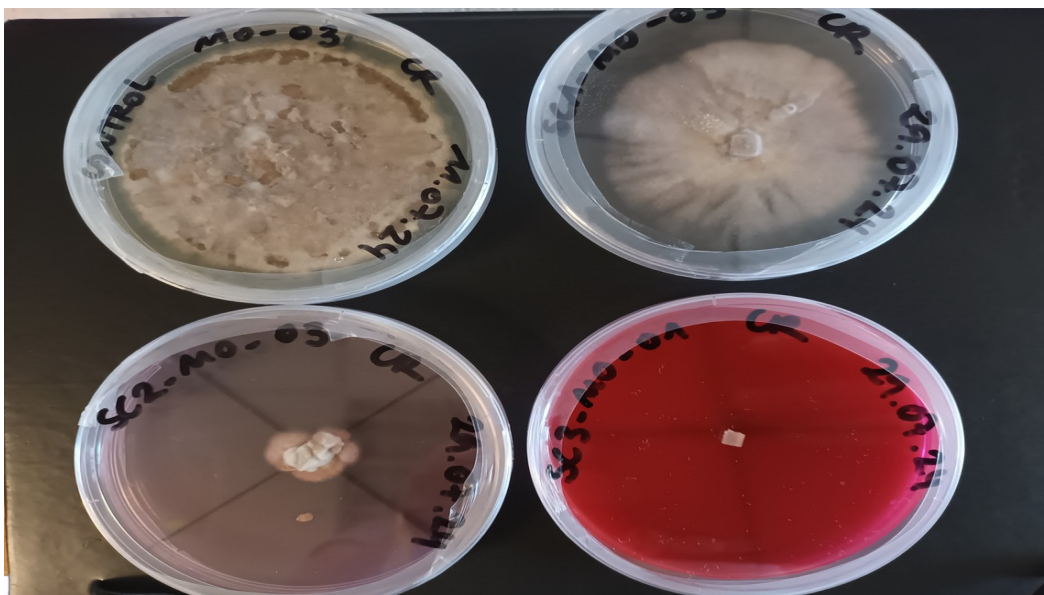


Figura 4: Crecimientos de *Alternaria alternata* (izquierda) y de *Microsphaeropsis olivacea* (derecha) en medio enmendado con SeedGard. En la esquina superior vemos el crecimiento control, arriba a la derecha con la dosis 1, debajo a la izquierda con la dosis 2 y debajo a la derecha con la dosis 3.

5. Discusión

Los resultados obtenidos en nuestro estudio demostraron que las semillas albergaban un número de taxones considerable, similar al de otros estudios de hongos en semillas de pino (FRAEDRICH & MILLER, 1995). Los hongos más frecuentes fueron *Alternaria alternata*, *Cladosporium* sp., *Epicoccum* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* sp., *Microsphaeropsis olivacea*, *Trichothecium roseum* y *Sydowia polyspora*. Muchos de los hongos aislados están clasificados como endófitos, ubicuos y cosmopolitas mientras que otros pueden comportarse como patógenos y oportunistas (ZAMORA ET AL. 2008; PEREIRA & PHILLIPS, 2025).

Se ha documentado que muchos hongos endófitos son colonizadores inofensivos de tejidos vegetales sanos y, aunque poseen potencial patógeno, el desarrollo de enfermedades o deterioro suele requerir la acción conjunta de factores desencadenantes; de lo contrario, estos hongos pueden permanecer en estado latente (SIEBER, 2007). La interacción con el clima, caracterizada por altas temperaturas registradas en los últimos años y bajas precipitaciones, puede favorecer que ciertos hongos, previamente no clasificados como patógenos, desempeñen un papel secundario en los procesos de decaimiento de árboles forestales (GIORDANO ET AL., 2009).

En nuestro estudio, *Alternaria alternata* (*Alternaria complex*) fue la especie más abundante; apareció en todos los materiales vegetales y en todas las especies. Se conoce que la mayoría de las especies del género *Alternaria* son saprófitos que se encuentran comúnmente en el suelo o en tejidos vegetales en descomposición. Sin embargo, algunas especies son patógenos vegetales y oportunistas que pueden



causar enfermedades con impacto económico en una gran variedad de plantas hospedantes incluidos cereales, plantas ornamentales, cultivos y también planta forestal (TOMMA, 2003; AUNG ET AL., 2020). Sin embargo, también son bien conocidos como patógenos postcosecha (PEREIRA & PHILLIPS, 2025) y han sido descritos ampliamente en semillas forestales (FRAEDRICH & MILLER, 1995).

En nuestro estudio, *Microspphaeropsis olivacea* fue uno de los hongos aislados con mayor frecuencia, apareciendo en todas las especies excepto en *Pinus uncinata*. Este hongo ha sido descrito como endófito en *Pinus sylvestris* (BUŠKAMP, ET AL., 2020), pero también como patógeno y agente causante de decaimiento en *Pinus eldarica* y *Quercus infectoria* en Irán (KARAMI ET AL., 2018; GHOBADI & JAMALI, 2024). Por último, el hongo *Sydowia polyspora* ha sido descrito en numerosos estudios como un endófito frecuente en varias especies de coníferas, pero también como un patógeno de pre-emergencia en semillas de *Pinus ponderosa* (RIDOUT & NEWCOMBE, 2018) y como causante de necrosis en acículas de *Abies* spp (TALGØ ET AL. 2010, 2020) y en *Pinus yunnanensis* (PAN ET AL., 2018).

Los resultados de nuestro estudio mostraron que varios productos redujeron el crecimiento de los hongos en los ensayos *in vitro* en comparación con los crecimientos medios de los controles. El producto SeedGard® con principio activo de tebuconazol fue capaz de reducir el crecimiento de los tres hongos testados. Se trata de un fungicida sistémico de amplio espectro, de acción preventiva y curativa que inhibe la síntesis del ergosterol del hongo impidiendo su multiplicación. Se ha probado con éxito en la reducción del crecimiento *in vitro* de otros patógenos de carácter forestal, como por ejemplo *Fusarium circinatum* (BERBEGAL ET AL. 2015). Sin embargo, y siguiendo la normativa europea, se recomienda dar preferencia a fungicidas no sintéticos para reducir los efectos adversos (DIRECTIVA 2009/128/EC).

Por otra parte, los aceites esenciales también tuvieron buenos resultados en la reducción de los crecimientos, en especial el aceite de tomillo. Los aceites esenciales pueden contener compuestos antimicrobianos naturales, y estos pueden usarse para la desinfección de semillas como una alternativa a los tratamientos fungicidas, o en combinación con tratamientos físicos (MANCINI & ROMANAZZI, 2013). El aceite de tomillo ha mostrado con mayor frecuencia la mejor eficacia ya que contiene timol y otros compuestos antifúngicos pero otros han demostrado también buenas actividades antifúngicas *in vitro* incluidos aceites de árbol de té, clavo, menta, romero, laurel, orégano y tomillo contra patógenos como *Alternaria* spp., *Botrytis* spp. *Fusarium* spp., o *Pseudomonas syringae* (MANCINI & ROMANAZZI, 2013; SOTELO ET AL. 2021; MOUMNI ET AL., 2023).

Por último, en nuestro estudio el producto Trianum-P®, basado en la cepa *Trichoderma harzianum*-T -22 mostró reducción del crecimiento micelial de los tres hongos estudiados en comparación con los controles. Las especies del género *Trichoderma* spp. se han estudiado ampliamente como potenciales agentes de control biológico para controlar diferentes patógenos, estimular el crecimiento de las plantas y mejorar las respuestas de defensa de las plantas (MOUMNI ET AL., 2023). Por ejemplo, se ha observado su eficacia contra patógenos forestales, como *F. circinatum* en experimentos *in vitro* (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ ET AL., 2012), o



contra *Diplodia pinea* en experimentos *in vivo* en *Pinus banksiana* (SANTAMARÍA ET AL., 2012).

6. Conclusiones

Las principales conclusiones del estudio fueron (i) que los lotes de semillas albergan un número considerable de taxones fúngicos, entre los que se encuentran varias especies de conocido carácter patógeno y/o oportunista que pueden ser las responsables de las bajas tasas de germinación observadas; y (ii) que los fungicidas a base de tebuconazol, tomillo y *Trichoderma harzianum* fueron los más efectivos en reducir los crecimientos de los hongos proporcionando alternativas sostenibles en el control de patógenos.

7. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado dentro del TC-MITECO 20234TE003 sobre Conservación y uso sostenible de los recursos genéticos forestales. Las opiniones y documentación aportadas son de exclusiva responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente los puntos de vista de las entidades que apoyan económicamente el proyecto.

8. Bibliografía

AGRIOS, G.N. 1997. Plant Pathology, Fourth Edition. London: Academic Press.

AUNG SLL, LIU HF, PEI DF, LU BB, OO MM, DENG JX (2020) Morphology and molecular characterization of a fungus from the *Alternaria alternata* species complex causing black spots on *Pyrus sinkiangensis* (Koerle pear). Mycobiology 48(3): 233–239. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1745476>.

BERBEGAL, M., LANDERAS, E., SÁNCHEZ, D., ABAD-CAMPOS, P., PÉREZ- SIERRA, A., & ARMENGOL, J. (2015). Evaluation of *Pinus radiata* seed treatments to control *Fusarium circinatum*: Effects on seed emergence and disease incidence. Forest Pathology, 45(6), 525– 533. <https://doi.org/10.1111/efp.12204>

BUßKAMP, J., LANGER, G.J. & LANGER, E.J. (2020). *Sphaeropsis sapinea* and fungal endophyte diversity in twigs of Scots pine (*Pinus sylvestris*) in Germany. Mycol Progress 19, 985–999. <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01617-0>.

CLEARY, M., OSKAY, F., DOĞMUŞ, H. T., LEHTIJÄRVI, A., WOODWARD, S., & VETTRAINO, A. M. (2019). Cryptic Risks to Forest Biosecurity Associated with the Global Movement of Commercial Seed. Forests, 10(5), 459. <https://doi.org/10.3390/f10050459>

DEACON, J.W. 2006. Fungal biology. Blackwell, Malden, 371.

DIRECTIVE 2009/128/EC of the European parliament and of the Council of 21 October 2009 establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides. Official Journal of the European Union, 24.09.2009, L 309/71-86.



- FRAEDRICH, S.W. AND MILLER, T. (1995), Mycoflora associated with slash-pine seeds from cones collected at seed orchards and cone-processing facilities in the south-eastern USA1. *European Journal of Forest Pathology*, 25: 73-82. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1995.tb00321.x>
- GHOBADI, A., & JAMALI, S. (2024). Identification of fungal species associated with gall oak (*Quercus infectoria* Oliv.) decline in Iran. *Plant Disease*, 0 0:ja.
- GIORDANO, L.; GONTHIER, P.; VARESE, G. C.; MISERERE, L.; NICOLOTTI, G., 2009: Mycobiota inhabiting sapwood of healthy and declining Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees in the Alps. *Fungal Divers.* 38, 69–83.
- HAASE DL, DAVIS AS (2017). Developing and supporting quality nursery facilities and staff are necessary to meet global forest and landscape restoration needs. *Reforesta* 4:69-93. DOI: <https://dx.doi.org/10.21750/REFOR.4.06.45>.
- HARTLEY, C. 1921. Damping-off in forest nurseries. Bulletin No. 934. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture. 99 p.
- HEYDARI, A., PESSARAKLI, M., 2010. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. *Journal of Biological Sciences*, 10 (4), 273-290.
- KARAMI, N., JAMALII, S. AND SHARIFI, R. (2018). Identification of fungal causal agents of pine trees die back in Kermanshah province. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 49(1), 11-21. doi: 10.22059/ijpps.2018.246297.1006813
- LANDIS T.D. 2013. Forest Nursery Pests: Damping-off. In: *Forest Nursery Notes - 2013 Winter*. Consultado en línea el 14-01-2015. <https://rngr.net/publications/fnn/2013-winter/2013-winter-forest-nursery-notes-publications-by-article/forest-nursery-pests-damping-off>
- LILJA, A., POTERI, M., PETÄISTÖ, R.-L., RIKALA, R., KURKELA, T. & KASANEN, R. 2010. Fungal diseases in forest nurseries in Finland. *Silva Fennica* 44(3): 525–545.
- MANCINI, V., & ROMANAZZI, G. (2014). Seed treatments to control seedborne fungal pathogens of vegetable crops. *Pest Management Science*, 70(6), 860–868. <https://doi.org/10.1002/ps.3693>
- MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, P., ALVES-SANTOS, F.M., DIEZ, J.J., 2012. In vitro and in vivo interactions between *Trichoderma viride* and *Fusarium circinatum*. *Silva Fenn.* 46, 303–316.
- MOUMNI, M., BRODAL, G. & ROMANAZZI, G. Recent innovative seed treatment methods in the management of seedborne pathogens. *Food Sec.* 15, 1365–1382 (2023). <https://doi.org/10.1007/s12571-023-01384-2>
- PAN, Y., YE, H., LU, J., CHEN, P., ZHOU, X. D., QIAO, M., AND YU, Z. F. (2018). Isolation and identification of *Sydowia polyspora* and its pathogenicity on *Pinus yunnanensis* in southwestern China. *Journal of Phytopathology*, 166(6), 386–395.
- PEREIRA, D. S., & PHILLIPS, A. J. L. (2025). Exploring the Diversity and Ecological Dynamics of Palm Leaf Spotting Fungi—A Case Study on Ornamental Palms in Portugal. *Journal of Fungi*, 11(1), 43. <https://doi.org/10.3390/jof11010043>.
- RIDOUT, M., & NEWCOMBE, G. (2018). *Sydowia polyspora* is both a foliar endophyte and a preemergent seed pathogen in *Pinus ponderosa*. *Plant Disease*, 102(3), 640–644. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-17-1074-RE>
- SANTAMARÍA, O., SMITH, D.R., STANOSZ, G.R., 2012. Interaction between *Diplodia*



pineae or *Diplodia scrobiculata* and fungal endophytes isolated from pine shoots. Can. J. For. Res. 42, 1819–1826.

SIEBER, T. N., 2007: Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists?. Fungal Biol. Rev. 21, 75–89.

SOTELO, J. P., ODDINO, C., GIORDANO, D. F., CAREZZANO, M. E., & OLIVA, M. DE LAS M. (2021). Effect of *Thymus vulgaris* essential oil on soybeans seeds infected with *Pseudomonas syringae*. Physiological and Molecular Plant Pathology, 116(October), 101735. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101735>

TALGØ, V., CHASTAGNER, G., THOMSEN, I. M., CECH, T., RILEY, K., LANGE, K., KLEMSDAL, S. S., & STENSVAND, A. (2010). *Sydowia polyspora* associated with current season needle necrosis (CSNN) on true fir (*Abies* spp.). Fungal Biology, 114(7), 545–554. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.04.005>

TALGØ, V., STENSVAND, A., PETTERSSON, M., & FLØISTAD, I. S. (2020). Management of diseases in Norwegian Christmas tree plantations. Scandinavian Journal of Forest Research, 35(8), 433–444. <https://doi.org/10.1080/02827581.2020.1778781>

TALIBI, I., BOUBAKER, H., BOUDYACH, E.H., AIT BEN AOUMAR, A, 2014. Alternative methods for the control of postharvest citrus diseases. J. Appl. Microbiol. 117, 1–17. doi:10.1111/jam.12495

THOMMA BP (2003) *Alternaria* spp.: From general saprophyte to specific parasite. Molecular Plant Pathology 4(4): 225–236. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00173.x>

WHITE, T.J., BRUNS, T.D., LEE, S.B., TAYLOR, J.W. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. and White, T.J., Eds., PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, New York, 315–322.