

# ESTADO NUTRIMENTAL E INFESTACIÓN EN *Pseudotsuga menziesii* POR EL TIZÓN SUIZO (*Phaeocryptopus gaeumannii*) EN AQUIXTLA, PUEBLA

## NUTRITIONAL STATUS AND INFESTATION IN *Pseudotsuga menziesii* BY SWISS NEEDLE CAST (*Phaeocryptopus gaeumannii*) AT AQUIXTLA, PUEBLA

Iván Fermín Quiroz-Ibáñez<sup>1</sup>, Víctor Manuel Cetina-Alcalá<sup>1\*</sup>, Miguel Ángel López-López<sup>1</sup>,  
Silvia Edith García-Díaz<sup>2</sup>, J. Jesús Vargas-Hernández<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ciencias Forestales. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (vicmac@colpos.mx). <sup>2</sup>División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Texcoco, Estado de México.

### RESUMEN

Las plantaciones de árboles de navidad con la especie *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco ocupan 10% de la superficie total de este tipo de plantaciones en México. El tizón suizo es una enfermedad propia de del género *Pseudotsuga*, originada por el hongo *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petrak (1938). Los principales síntomas incluyen follaje clorótico y abscisión prematura de acículas infectadas, lo que resulta en copas ralas. El objetivo de este estudio fue determinar la relación entre la fertilización química y el estado nutricional de los árboles con los niveles de severidad e incidencia de la enfermedad. La hipótesis fue que hay una correlación entre el estado nutricional y la variación del grado de infestación del tizón suizo en *P. menziesii*. El estudio se estableció en el predio multifuncional “El Manantial” en Aquixtla, Puebla. Los tratamientos fueron fertilización con urea y sulfato de potasio y control fitosanitario químico con propiconazol y prochloraz. El diseño experimental fue bloques al azar generalizado, evaluando dos factores controlados con tres niveles (factorial 3<sup>2</sup>) y como factor de confusión o bloqueo el nivel visual de transparencia de copa asociado al tizón suizo. La incidencia y la severidad se evaluaron. Los resultados del ANDEVA no indicaron diferencias significativas. De las variables nutricionales las de mayor asociación a la severidad e incidencia fueron el contenido de Ca y Mn, y en menor medida, Cu, Mg y N. Entre los tratamientos se observaron antagonismos y sinergismos con efecto en el estado nutricional. Los fungicidas influyen en la absorción, transporte y asimilación de los nutrimentos.

**Palabras clave:** abeto Douglas, *Pseudotsuga menziesii*, árboles de navidad, *Phaeocryptopus gaeumannii*, nutrición.

### ABSTRACT

*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco covers 10% of the total area of Christmas tree commercial plantations in Mexico. Swiss needle cast (SNC) is a disease particular to the genus *Pseudotsuga*, caused by the fungus *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petrak (1938). The main symptoms include chlorotic foliage and premature abscission of infected needles, resulting in thin crowns. The objective of this study was to determine the relationship of chemical fertilizer and tree nutritional status to severity and incidence levels of the disease. The hypothesis was that nutritional status correlates with variations on SNC infestation level in *P. menziesii*. The study was set up in the multipurpose forested land “El Manantial” in Aquixtla, Puebla. Treatments were fertilization with urea and potassium sulphate, and a chemical phytosanitary control with propiconazole and prochloraz. The experimental design was generalized random blocks, evaluating two controlled factors with three levels (factorial 3<sup>2</sup>) and, as the confounding or blocking factor, the visual level of crown transparency associated with SNC. Incidence and severity were evaluated. The results of the ANOVA did not indicate significant differences. Of the nutrient variables, those that had higher association with severity and incidence were Ca and Mn contents, and to a lesser degree, Cu, Mg and N. Among the treatments, antagonisms and synergisms were observed to affect nutrient status. Fungicides affected nutrient absorption, transport, and assimilation.

**Key words:** Douglas fir, *Pseudotsuga menziesii*, Christmas trees, *Phaeocryptopus gaeumannii*, nutrition.

\* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

Recibido: julio, 2019. Aprobado: mayo, 2020.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 54: 797-811. 2020.

## INTRODUCCIÓN

El abeto Douglas (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco) es parte de la vegetación de México y su distribución geográfica natural es de Sonora a Oaxaca (Domínguez, 2015). A partir del siglo XVII, en Alemania, se utiliza esta especie como árbol de navidad. La tradición se extendió a Inglaterra y luego a EUA, donde ahora se comercializan varias especies de *Abies* Mill., *Pinus* L., *Picea* Link y *P. menziesii* (Hansen y Lewis, 2003). Las especies típicas cultivadas en México como árboles de navidad son *Pinus ayacahuite* Ehrenb. ex Schltld., *Pseudotsuga menziesii*, *Pinus cembroides* Zucc., *Pinus greggii* Engelm. ex Parl., *Abies religiosa* Schltld. & Cham., *Picea* sp., *Cupressus lusitanica* Mill., *Chamaecyparis* sp. Spach y *Thuja* sp. L. (CONAFOR, 2017). El género *Pseudotsuga* ocupó el 10% de la superficie establecida con plantaciones de árboles de navidad entre 2013 y 2017 en México (CONAFOR, 2017).

El tizón suizo es una enfermedad propia del género *Pseudotsuga*, la cual se origina por el hongo *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petr. (1938) = *Nothophaeocryptopus gaeumannii* (Videira *et al.*, 2017). Este hongo parasita las acículas, produce un micelio intracelular y en los estomas presenta pseudotecios (Hansen *et al.*, 2000; Stone *et al.*, 2008). Manter *et al.* (2000) descubrieron que el intercambio gaseoso en las acículas infectadas por *P. gaeumannii* es afectado cuando emergen los pseudotecios de los estomas, y propicia que la asimilación de CO<sub>2</sub> disminuya. Los principales síntomas incluyen follaje clorótico y abscisión prematura de acículas infectadas que dan como resultado copas ralas (Hansen *et al.*, 2000). Las acículas de *P. menziesii* tienen un período de vida de siete años, pero con la enfermedad pueden permanecer menos de cinco años, y en daños más severos sólo pueden mantener follaje del último período vegetativo (Hansen y Lewis, 2003); además, reduce el crecimiento de los árboles infectados (Hansen *et al.*, 2000; Cibrián *et al.* 2014; Lan *et al.*, 2019). Este patógeno se reportó primero en Suiza (1925), después se supo que el hongo es nativo de Norteamérica y se introdujo por accidente en Europa (Hansen *et al.*, 2000; Stone *et al.*, 2008). En EUA y Canadá afecta grandes regiones del noroeste y merma el crecimiento de *P. menziesii* (Cibrián *et al.*, 2014). Este patógeno se expandió a varias regiones donde *Pseudotsuga* es una especie introducida, principalmente en países del

## INTRODUCTION

Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco) is part of the vegetation of Mexico. Its natural geographic distribution extends from Sonora to Oaxaca (Domínguez, 2015). Since the 17<sup>th</sup> century in Germany, this species has been used for Christmas trees. The tradition spread to England and later to the United States, where several species are now commercialized: *Abies* Mill., *Pinus* L., *Picea* Link and *P. menziesii* (Hansen and Lewis, 2003). The species typically cultivated in Mexico for Christmas trees are *Pinus ayacahuite* Ehrenb. ex Schltld., *Pseudotsuga menziesii*, *Pinus cembroides* Zucc., *Pinus greggii* Engelm. ex Parl., *Abies religiosa* Schltld. & Cham., *Picea* sp., *Cupressus lusitanica* Mill., *Chamaecyparis* sp. Spach and *Thuja* sp. L. (CONAFOR, 2017). The genus *Pseudotsuga* occupied 10% of the area established with Christmas tree plantations between 2013 and 2017 in Mexico (CONAFOR, 2017).

Swiss needle cast (SNC), a disease that is specific to the genus *Pseudotsuga*, is caused by the fungus *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petr. (1938) = *Nothophaeocryptopus gaeumannii* (Videira *et al.*, 2017). This fungal pathogen parasites the needles and produces intracellular mycelium, and pseudothecium is present in the stomata (Hansen *et al.*, 2000; Stone *et al.*, 2008). Manter *et al.* (2000) discovered that gas exchange in needles infected by *P. gaeumannii* is affected when the pseudothecium emerges from the stomata and reduce CO<sub>2</sub> assimilation. Main symptoms include chlorotic foliage and premature abscission of infected needles, resulting in thin crowns (Hansen *et al.*, 2000). *P. menziesii* needles have a life of seven years, but with the disease, they can last less than five years. With more severe damage, they maintain the foliage of only the last vegetative period (Hansen and Lewis, 2003). Furthermore, the fungus reduces tree growth (Hansen *et al.*, 2000; Cibrián *et al.* 2014; Lan *et al.*, 2019). This pathogen was first reported in Switzerland (1925). Later, it was found to be native to North America and was introduced accidentally into Europe (Hansen *et al.*, 2000; Stone *et al.*, 2008). In the United States and Canada, it affects large regions of the northwest and shrinks the growth of *P. menziesii* (Cibrián *et al.*, 2014). The fungus spread to several regions where *Pseudotsuga* is an introduced species, mainly in countries of the southern hemisphere, Europe, the Middle East and Oceania. Thus, SNC is a phytosanitary problem

hemisferio sur, Europa, Asia occidental y Oceanía, por lo que es un problema fitosanitario en el cultivo de árboles de navidad y bosques naturales (Hansen *et al.*, 2000; Morales *et al.*, 2012).

En México hay cepas locales de *P. gaeumannii*, colonizadoras de *P. menziesii* var. *glauca*, en la Sierra Madre Occidental, la Sierra Madre Oriental y en la Sierra Madre del Sur, así como en diversas plantaciones de árboles de navidad en 11 estados del centro del país (Cibrián *et al.*, 2014).

La fertilización tiene efectos en el crecimiento y productividad, ya que al mejorar el estado nutricional de los árboles, adquieren mayor resistencia o tolerancia a plagas (Binkley y Fisher, 2013). Aunque la resistencia y la tolerancia están controladas genéticamente, son influenciadas por factores ambientales; la nutrición puede considerarse como un factor ambiental que puede manipularse con relativa facilidad mediante la aplicación de fertilizantes, para mitigar el estrés biótico (Huber *et al.*, 2012). Todos los nutrientes esenciales reportados influyen en la incidencia y severidad de algunas enfermedades, pero ningún nutriente individual puede controlar todas las enfermedades o favorecer el control de enfermedades para algún grupo de plantas (Huber y Graham, 1999).

Según el estado nutricional de la planta, el nutriente, las especies de plantas y el tipo de patógeno o plaga, la nutrición puede afectar la resistencia/tolerancia de la planta, o la virulencia del patógeno (Huber *et al.*, 2012). Los efectos de N, P y K en la incidencia y severidad de enfermedades se reportan con más frecuencia que los efectos de micronutrientes (Huber y Graham, 1999). El exceso de N aumenta la severidad de la infección por tizón suizo (El-Hajj *et al.*, 2004) y su balance con el P la mantiene, aunque en general el efecto de la fertilización en la enfermedad es parcialmente entendido (Mulvey *et al.*, 2013). El objetivo de este estudio fue identificar al tizón suizo mediante su morfología, y evaluar el efecto de la fertilización química y el estado nutricional de los árboles, a partir de los niveles de severidad e incidencia (*i.e.* grado de infestación o intensidad), en una plantación de *P. menziesii* de siete años. La hipótesis es que hay una correlación entre el estado nutricional y la variación del grado de infestación del tizón suizo en *P. menziesii*.

for Christmas tree production as well as for natural forests (Hansen *et al.*, 2000; Morales *et al.*, 2012).

In Mexico, there are local strains of *P. gaeumannii*, colonizers of *P. menziesii* var. *glauca*, in the Sierra Madre Oriental and in the Sierra Madre del Sur, as well as in several Christmas tree plantations in 11 states of central Mexico (Cibrián *et al.*, 2014).

Fertilization affects growth and productivity since it improves nutrient status of the trees, so that they acquire greater resistance or tolerance to pests (Binkley and Fisher, 2013). Although resistance and tolerance are controlled genetically, they are influenced by environmental factors. Nutrition can be considered an environmental factor that can be manipulated with relative ease through application of fertilizers to mitigate biotic stress (Huber *et al.*, 2012). All the essential nutrients reported have an influence in incidence and severity of some diseases, but no individual nutrient can control all the diseases or favor the control of disease over a given group of plants (Huber and Graham, 1999).

Depending on the nutritional status of the plant, the nutrient, the plant species and the type of pathogen or pest, nutrition can affect resistance/tolerance of the plant or the virulence of the pathogen (Huber *et al.*, 2012). The effects of N, P, and K on incidence and severity of some diseases is reported more often than the effects of micronutrients (Huber and Graham, 1999). Excessive N increases the severity of SNC infection (El-Hajj *et al.*, 2004), and its balance with P maintains the disease. Though, in general the effect of fertilization on the disease is just partially understood (Mulvey *et al.*, 2013). The objective of this study was to identify SNC by its morphology and evaluate the effect of chemical fertilizer and tree nutrient status on the severity and incidence levels of the disease (*i.e.* degree of infestation or intensity) in a seven-year-old *P. menziesii* plantation. The hypothesis was that there is a correlation between the nutrient status and variation in the degree of SNC infestation in *P. menziesii*.

## MATERIALS AND METHODS

### Morphological identification

*P. gaeumannii* was identified by morphology of its pseudothecia. Only pseudothecia were measured because during

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Identificación morfológica

La identificación de *P. gaeumannii* se realizó mediante las características de morfología de los pseudotecios. Sólo se realizaron mediciones de los pseudotecios porque durante el experimento siempre se encontraron inmaduros. Las imágenes con microscopio estereoscópico (Leica® ZOOM 2000 a 45X) se analizaron con el programa IMAGE-J y se estableció una escala gráfica para realizar mediciones de estos órganos (n=130).

### Sitio y establecimiento experimental

La Reserva Forestal Multifuncional “El Manantial” S. C. se ubica en la región de la “Sierra Norte” del estado de Puebla, entre los municipios de Aquixtla e Ixtacamaxitlán, con 274.8 ha. El área de estudio está en el paraje “Sierra Mojada”, con una altitud promedio de 3000 m sobre el nivel medio del mar, en 19° 43' 17.86" N, 97° 59' 28.43" O, 19° 43' 17.61" N, 97° 59' 27.82" O, 19° 43' 19.86" N, 97° 59' 26.51" O y 19° 43' 20.66" N, 97° 59' 27.29" O. La plantación seleccionada tenía una edad de 7 años, con una densidad de 2890 árboles ha<sup>-1</sup>, 10.11 cm de diámetro basal medio (a 5 cm del suelo) y 1.90 m de altura media. Los fertilizantes aplicados antes fueron Triple 16 (16-16-16), en 2012, a todos los árboles en la zona de goteo de la copa, con dos podas de formación anual; y Nitrofoska® (100 a 150 g por árbol) en 40 cm del suelo, en junio-julio de 2016. La primera detección del tizón suizo el predio fue en 2006, y se usó clorotalonil como control químico.

En noviembre de 2017 se estableció un diseño experimental en bloques al azar generalizado, se evaluaron dos factores controlados con tres niveles (factorial 3<sup>2</sup>), se consideró un árbol como unidad experimental y dos repeticiones por bloque. El factor de confusión fue el nivel visual de transparencia de copa asociado con el tizón suizo (Figura 1). El primer factor incluyó tres niveles de fertilización (urea, sulfato de potasio y control) y el segundo tuvo tres niveles de aplicación de fungicidas químicos (propiconazol, prochloraz y control). Los bloques se separaron con listones de diferente color (*i.e.* verde: bajo; anaranjado: medio; rojo: alto). Cada tratamiento tuvo seis repeticiones y hubo 54 unidades experimentales que se aleatorizaron con el programa R 3.5.2 (en el paquete *agricolae* y la función *design.ab*). La evaluación se realizó en mayo de 2018.

### Tratamientos

#### Dosis de fertilización

Las ramillas con acículas de 2017 se recolectaron mediante un muestreo sistemático durante un recorrido en zig-zag aproximado

the experiment they were always found immature. The images taken with a stereoscopic microscope (Leica® ZOOM 2000 at 45X) were analyzed with IMAGE-J, and a graphic scale was established to measure these organs (n=130).

### Site and experimental layout

The multipurpose Forest Reserve “El Manantial” S.C. is located in the Sierra Norte region of the state of Puebla, between the municipalities of Aquixtla and Ixtacamaxitlán; it covers an area of 274.8 ha. The study site is in the area called “Sierra Mojada” at a mean altitude of 3000 m, at 19°43'17.86" N, 97° 59' 28.43" W, 19° 43' 17.61" N, 97° 59' 27.82" W, 19° 43' 19.86" N, 97° 59' 26.51" W and 19° 43' 20.66" N, 97° 59' 27.29" W. The selected plantation was 7 years old, with a density of 2890 trees ha<sup>-1</sup>, mean basal diameter 10.11 cm (5 cm above the ground) and 1.90 m mean height. The fertilizers applied before were Triple 16 (16-16-16), in 2012, to all the trees in the drip zone of the crown with two annual form-pruning events, and Nitrofoska® (100 to 150 g per tree) in 40 cm depth of soil in June-July of 2016. SNC was first detected on the plantation in 2006, and chlorothalonil was used as chemical control.

In November 2017, an experimental design in generalized random blocks was set up. Two controlled factors were evaluated with three levels each (factorial 3<sup>2</sup>). One tree was the experimental unit, and two replicates per block were established. The confounding factor was the visual level of crown transparency associated with SNC (Figure 1). The first factor included three levels of fertilization (urea, potassium sulphate and the control), and the second had three levels of chemical fungicide application (propiconazole, prochloraz and the control). The blocks were separated with ribbons of different color (*i.e.* green: low, orange: medium; red: high). Each treatment had six replicates, and there were 54 experimental units which were randomized with R 3.5.2 software (in the *agricolae* package and *design.ab* function). Treatments evaluation was carried out in May 2018.

### Treatments

#### Fertilizer doses

In 2017, twigs with needles were collected by systematic sampling on a zig-zag path of approximately 100 m. Five subsamples in four transects were obtained, and a compound sample from each transect was used. The foliage samples were collected from the upper third of the crown, from the middle part of mature, non-senescent twigs in August 2017. Samples were washed with tap water and then with distilled water. They were placed in brown paper bags to be dried in a forced circulation



**Figura 1. Nivel de transparencia de copa: A) nivel bajo, B) nivel medio y C) nivel alto.**  
**Figure 1. Crown transparency levels: A) low, B) medium and C) high.**

de 100 m. Cinco submuestras en cuatro transectos se obtuvieron y se usó una muestra compuesta por cada transecto. Las muestras foliares se recolectaron del tercio superior de la copa, de la parte media de ramillas maduras, no senescentes, en agosto 2017. Las muestras se lavaron con agua potable y luego con agua destilada; se colocaron en bolsas de papel estraza, el secado se hizo en una estufa de circulación forzada marca FELISA®, a 70 °C por 72 h y se molieron en un mortero. Después se enviaron al laboratorio Salvador Alcalde Blanco, del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, para determinar macronutrientos (N, P, K, Ca, Mg) y micronutrientos (Cu, Mn, B, Fe, Zn).

Las concentraciones nutrimentales foliares se interpretaron mediante las concentraciones críticas de Ballard y Carter (1986) para *P. menziesii*. Con base en los análisis foliares se definieron los tratamientos de fertilización, y se determinó que N y K son deficientes en el follaje. El cálculo de las dosis de fertilización se hizo con base en el modelo racional o modelo demanda-suministro, adaptado para concentraciones foliares:  $Dosis = (demanda\ del\ cultivo - suministro\ del\ suelo) / eficiencia\ de\ recuperación\ del\ fertilizante$  (Etchevers, 1999). La dosis de los macronutrientos y micronutrientos se calculó al considerar 1 kg de biomasa foliar, y 40% de eficiencia de la fertilización para los micronutrientos, y se usó la concentración crítica de boro. Los materiales fertilizantes inorgánicos usados fueron urea, sulfato de potasio, de manera secundaria ácido fosfórico y el producto comercial Sagaquel Combi®. Las dosis de urea, ácido fosfórico y sulfato de potasio se calcularon con 1 kg de biomasa foliar, 5, 15 y 15% de eficiencia de la fertilización, respectivamente. Con base en lo anterior se decidió aplicar 10 g de urea (N) y 80 g de sulfato de potasio (K) en la zona de goteo de la copa en noviembre de 2017 (Cuadro 1); todas las unidades experimentales recibieron una dosis de 5 g de ácido fosfórico y una dosis de 15 g del producto Sagaquel Combi®.

oven FELISA®, at 70 °C for 72 h and then ground in a mortar. After that, samples were sent to the laboratory Salvador Alcalde Blanco at Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo ([www.colpos.mx](http://www.colpos.mx)), to determine macronutrients (N, P, K, Ca, Mg) and micronutrients (Cu, Mn, B, Fe, Zn).

Nutrient foliage concentrations were interpreted using Ballard and Carter critical concentrations (1986) for *P. menziesii*. Fertilizer treatments were determined based on the foliage analyses, which determined that N and K were deficient in the foliage. Fertilizer dose was calculated based on the rational, or demand-supply, model adapted for leaf concentrations:  $dose = (crop\ demand - soil\ supply) / efficiency\ of\ fertilizer\ recuperation$  (Etchevers, 1999). Doses of macronutrients and micronutrients were calculated considering 1 kg leaf biomass, and 40% fertilization efficiency for micronutrients, and using the boron critical concentration. The inorganic fertilizer materials used were urea and potassium sulphate, and, secondarily, phosphoric acid and the commercial product Sagaquel Combi®. The doses of urea, phosphoric acid and potassium sulphate were calculated with 1 kg leaf biomass and 5, 15, and 15% fertilization efficiency, respectively. On this basis, 10 g urea (N) and 80 g potassium sulphate (K) were applied to the crown drip zone in November 2017 (Table 1). All the experimental units received a dose of 5 g phosphoric acid and one dose of 15 g of the product Sagaquel Combi®.

#### Fungicide doses

The two fungicides selected to evaluate their effects were Tilt® (propiconazole) and Sportak® (prochloraz), which are not in the list of highly dangerous pesticides of the FSC® 2017 (*Forest Stewardship Council*) (FSC®, 2017). Propiconazole has very low mobility in the soil and a half-life of 55 d. Its toxicity varies from

**Cuadro 1. Tratamientos de fungicidas y fertilizantes aplicados en el experimento.**  
**Table 1. Fungicide treatments and fertilizers applied in the experiment.**

Tratamiento	Propiconazol (mL L <sup>-1</sup> )	Factores		
		Prochloraz (mL L <sup>-1</sup> )	Urea (g)	Sulfato de potasio (g)
T1	0	0	0	0
T2	0	1	0	80
T3	0	1	0	0
T4	0	1	10	0
T5	1	0	0	80
T6	1	0	0	0
T7	1	0	10	0
T8	0	0	0	80
T9	0	0	10	0

Variables evaluadas. ♦ Evaluated variables.

### Dosis de fungicidas

Los dos fungicidas seleccionados para evaluar sus efectos, Tilt® (propiconazol) y Sportak® (prochloraz) no están en la lista de plaguicidas altamente peligrosos del FSC® 2017 (*Forest Stewardship Council*, Consejo de Administración Forestal) (FSC®, 2017). El propiconazol tiene movilidad muy baja en el suelo, con una vida media de 55 d. Su toxicidad varía de alta a moderada para insectos y zooplancton, moderada para peces y moluscos, y ligera para crustáceos. No es tóxico para abejas. La vida media del prochloraz en el suelo es 125 d. La toxicidad de este producto es alta para algas, moderada para peces y crustáceos, y ligera para aves y abejas.

Las dosis de fungicidas fueron 1 mL de producto comercial + 2 mL del producto adherente Dap-plus® por cada litro de agua en cada unidad experimental (Cuadro 1). La aplicación de los fungicidas se realizó en noviembre y diciembre de 2017, en la copa de los árboles, con una mochila aspersora manual de la marca SWISSMEX®.

En mayo de 2018 se usaron tijeras para podar una ramilla del tercio superior de cada unidad experimental, las muestras se lavaron, se colocaron en bolsas de papel estraza y se secaron 72 h en una estufa a 70 °C; después se pesó una muestra compuesta de 100 acículas de la cohorte de edad 2017, con una balanza analítica Ohaus Serie Adventurer™ Pro y se molió en un mortero. Cada muestra se homogenizó de acuerdo con su tratamiento y su bloque, por lo que se enviaron al laboratorio 27 muestras para cuantificar macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg) y micronutrientes (Cu, Mn, B, Fe, Zn). Con los resultados del análisis de laboratorio se evaluó el contenido nutrimental foliar expresado en mg (concentración × peso seco de 100 acículas / 100).

high to moderate for insects and zooplankton, moderate for fish and mollusks, and slight for crustaceans. It is not toxic for bees. Half-life of Prochloraz in the soil is 125 d. Toxicity of this product is high for algae, moderate for fish and crustaceans, and slight for birds and bees.

The doses of fungicides were 1 mL of commercial product + 2 mL of the adherent product Dap-plus® per liter of water on each experimental unit (Table 1). Fungicides were applied in November and December 2017 on the tree crown with a SWISSMEX® backpack sprayer.

### Evaluated variables

In May 2018, a twig from the upper third of each experimental unit was cut off with scissors. The samples were washed, placed in brown paper bags and dried for 72 h in an oven at 70 °C. After drying, a compound sample of 100 needles of the 2017 age cohort was weighed on an analytical balance Ohaus Serie Adventurer® Pro and ground in a mortar. Each sample per treatment and block was homogenized, and the 27 samples were sent to the laboratory for quantification of macronutrients (N, P, K, Ca, Mg) and micronutrients (Cu, Mn, B, Fe, Zn). With the results of the laboratory analyses, leaf nutrient content, expressed in mg, was evaluated (concentration × dry weight of 100 needles / 100).

In order to evaluate the intensity of SNC (incidence and severity), the methodology of Hansen *et al.* (2000) was used with modifications. The samples were adhered to letter-size cardboard (21.6 cm x 27.9 cm) with double-sided adhesive tape so that the abaxial side of the needles was on top. From each cohort (needle age), 30 leaves were selected at random to evaluate incidence (presence or absence of the pathogen), and 10 needles were checked to evaluate severity by thirds. For severity, the

Para evaluar el grado de infección por el tizón suizo (incidencia y severidad) se utilizó la metodología de Hansen *et al.* (2000), con modificaciones. Las muestras se adhirieron a cartulinas tamaño carta (21.6 cm x 27.9 cm) con cinta doble cara para que la superficie abaxial de las acículas quedara hacia arriba. De cada cohorte (edad de las acículas) se seleccionaron 30 hojas al azar para evaluar la incidencia (presencia o ausencia del patógeno) y se revisaron 10 acículas para evaluar la severidad por tercios. Para la severidad se realizaron recuentos de la proporción de estomas ocluidos por pseudotecios (densidad de pseudotecios) en tres ubicaciones distintas a lo largo de cada acícula dividida en tres secciones de igual longitud (base, media y punta). En cada tercio se seleccionó un punto de inicio aleatorio para el recuento y examen de 100 estomas (50 a cada lado de la nervadura central), y se registró el número de estomas ocluidos por pseudotecios.

Los recuentos de pseudotecios se realizaron con un contador manual en un microscopio estereoscópico Leica® ZOOM 2000 a 45X. La severidad e incidencia se calculó por cada acícula y cohorte de edad en cada árbol, para proporcionar una mejor estimación de la densidad media de pseudotecios (Figura 2).

#### Análisis estadístico

Con los datos se realizó un análisis de varianza (ANDEVA), una matriz de correlaciones y un análisis de correlación canónica entre las variables contenido nutrimental del follaje y los niveles de incidencia y severidad de la enfermedad. Ambas cohortes de edad del follaje, en su conjunto (2016 y 2017), se usaron para representar las dos variables de la intensidad del tizón suizo y siete variables para el estado nutrimental de los árboles (Cuadro 2). Los

proportion of stomata occluded by pseudothecia (pseudothecia density) was counted in three different locations along each needle divided into three longitudinal sections (base, middle, and tip). In each third, a random initial point was selected for counting and examination of 100 stomata (50 on each side of the central midrib), and the number of stomata occluded by pseudothecia was recorded.

Pseudothecia were counted with a manual counter under a stereoscopic microscope Leica® ZOOM 2000 at 45X. Severity and incidence were calculated for each needle and age cohort on every tree to provide a better estimation of the mean density of pseudothecia (Figure 2).

#### Statistical analysis

With the data, an analysis of variance (ANOVA), a matrix of correlations, and an analysis of canonic correlation were performed on the variables foliage nutrient content and the levels of incidence and severity of the disease. Both foliage age cohorts (2016 and 2017) were used together to represent the two variables of SNC intensity and seven variables for nutrient status of the trees (Table 2). Leaf analyses were interpreted with Ballard and Carter (1986) critical concentrations at the end of the experiment. The analyses were carried out with R v. 3.5.2 (R Core Team, 2018) and SAS® v. 9.4 (SAS Institute Inc., 2013).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Morphological identification

*Phaeocryptopus gaeumannii* was identified as the causal agent of SNC by pseudothecia morphology

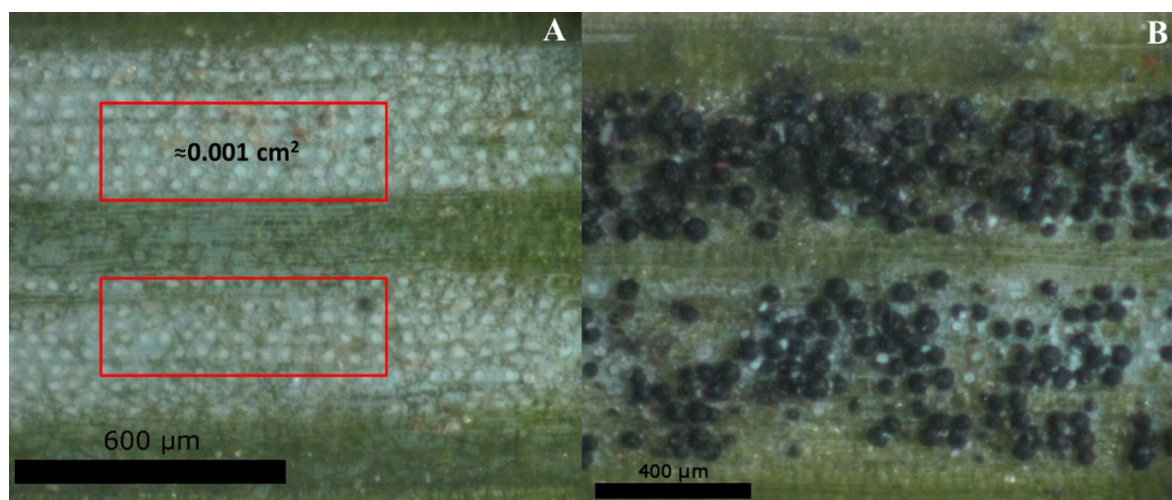


Figura 2. Acículas de las cohortes de edad A) 2017 y B) 2016; el área evaluada para medir la severidad es cerca de 0.001 cm<sup>2</sup>; hay alrededor de 5000 estomas cm<sup>-2</sup>.

Figure 2. Age cohorts of needles A) 2017 and B) 2016; the area evaluated to measure severity is nearly 0.001 cm<sup>2</sup>; there are around 5000 stomata cm<sup>-2</sup>.

análisis foliares se interpretaron con las concentraciones críticas de Ballard y Carter (1986) al final del experimento. Los análisis se realizaron en los programas R v. 3.5.2 (R Core Team, 2018) y SAS® v. 9.4 (SAS Institute Inc., 2013).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Identificación morfológica

*Phaeocryptopus gaeumannii* se identificó como el agente causal del tizón suizo por medio de la morfología de los pseudotecios y la sintomatología de las acículas de *P. menziesii*. Los síntomas y signos mencionados por Hansen *et al.* (2000), Stone *et al.* (2008), y Cibrián *et al.* (2014) se corroboraron. Los pseudotecios miden (43-) 55 (-72)  $\mu\text{m}$  de diámetro.

### Análisis estadístico

#### Análisis de correlaciones canónicas (ACC) y ANDEVA

En el análisis se realizaron transformaciones para normalizar las variables N, Mn y Cu con la transformación de Box-Cox; la severidad (2016-2017) y la incidencia (2016-2017) con la función arcoseno-raíz cuadrada, para obtener una distribución normal multivariada del conjunto de datos.

El ANDEVA no mostró diferencias estadísticas significativas para las variables incidencia y severidad. Pero el análisis de correlaciones entre las variables originales muestra que las relaciones lineales significativas mayores ( $p \leq 0.05$ ) se generaron entre Ca-incidencia ( $R = -0.47$ ), Mn-Incidencia ( $R = -0.43$ ) e Incidencia-Severidad ( $R = 0.61$ ) (Figura 3). La concentración de N tuvo una relación mediana con la incidencia del tizón ( $R = 0.42$ ), lo cual coincide con hallazgos de Lan *et al.* (2019) y El-Hajj *et al.* (2004). La relación entre incidencia y severidad de la enfermedad es relevante porque cualquier relación cuantificable entre ellas permitiría estimar la severidad a partir de los valores de incidencia (McRoberts *et al.*, 2003).

La primera correlación canónica fue estadísticamente significativa ( $p = 0.01$ ), con  $R = 0.84$  y explica el 92% de la variabilidad.

La segunda variable canónica no resultó significativa ( $p = 0.71$ ), con  $R = 0.41$ .

Los estadísticos multivariados y las aproximaciones de F fueron significativos ( $p \leq 0.05$ ) para la primera correlación canónica (Cuadro 3).

### Cuadro 2. Variables asociadas mediante el análisis de correlación canónica.

Table 2. Variables associated by the canonic correlation analysis.

Variables asociadas al tizón	Variables nutrimentales
Severidad (Y1)	Nitrógeno (X1)
Incidencia (Y2)	Potasio (X2)
	Calcio (X3)
	Magnesio (X4)
	Cobre (X5)
	Manganeso (X6)
	Boro (X7)

and *P. menziesii* needle symptomatology. The signs and symptoms mentioned by Hansen *et al.* (2000), Stone *et al.* (2008), and Cibrián *et al.* (2014) were corroborated. The pseudothecia measured (43-) 55 (-72)  $\mu\text{m}$  in diameter.

### Statistical analysis

#### Analysis of canonic correlations (ACC) and ANOVA

In the analysis, transformations were performed to normalize the variables N, Mn and Cu with Box-Cox transformation. Severity (2016-2017) and incidence (2016-2017) were normalized with the arcsine-square root function to obtain a normal multivariate distribution of the set of data.

The ANOVA did not reveal significant statistical differences for the variables incidence and severity. But the correlation analysis between pairs of the original variables showed that most of the significant linear relationships ( $p \leq 0.05$ ) were generated between Ca-incidence ( $R = -0.47$ ), Mn-incidence ( $R = -0.43$ ), and Incidence-Severity ( $R = 0.61$ ) (Figure 3). N concentration had a medium relationship with SNC incidence ( $R = 0.42$ ), coinciding with the findings of Lan *et al.* (2019) and El-Hajj *et al.* (2004). The relationship between incidence and severity of the disease is relevant because any quantifiable relationship between them enables estimating severity from the incidence values (McRoberts *et al.*, 2003).

The first canonic correlation was statistically significant ( $p = 0.01$ ), with  $R = 0.84$ , and explains 92% of the variability. The second canonic variable was not significant ( $p = 0.71$ ), with  $R = 0.41$ .

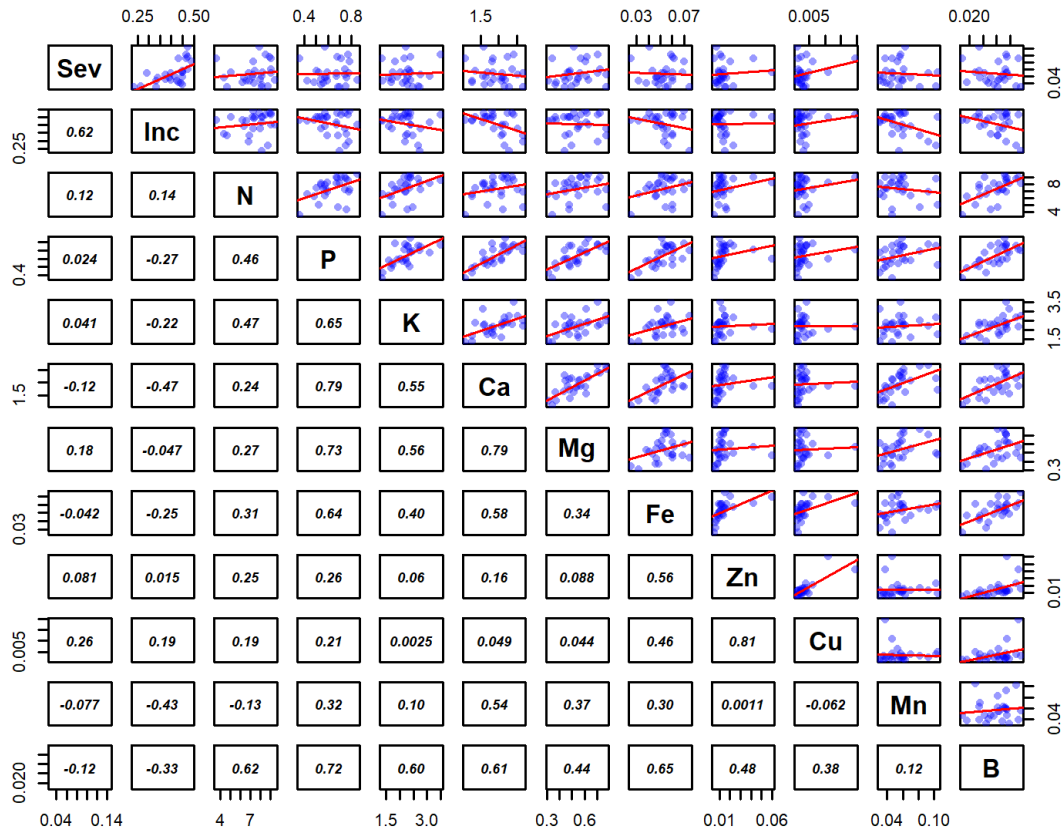


Figura 3. Matriz de diagramas de dispersión y correlación del contenido nutricional foliar y la intensidad del tizón suizo.  
Figure 3. Matrix of dispersion diagrams and correlation of leaf nutrient content with intensity of Swiss needle cast.

La correlación de la variable canónica del tizón (VCT) y la incidencia fue mayor que con la severidad y el contenido de Ca y Mn, esta última negativa (Cuadro 4). La variable canónica de los nutrientes se correlacionó mejor con la incidencia, y estuvo más influenciada por el Ca y el Mn y menos influenciada por Cu, Mg y N. Al aumentar la variable canónica de los nutrientes (VCN), también aumentaron las concentraciones foliares de Ca y B, pero disminuyeron

The multivariate statistics and the F approximations were significant ( $p \leq 0.05$ ) for the first canonic correlation (Table 3).

Correlation of the canonic SNC variable (VCT) with incidence was higher than that of severity with Ca and Mn content, and was negative with Mn content (Table 4). The canonic variable of the nutrients correlated better with incidence and was more influenced by Ca and Mn and less influenced

Cuadro 3. Estadísticos multivariados y valor de p de la primera correlación canónica.  
Table 3. Multivariate statistics and p value of the first canonic correlation.

Estadístico	Valor	F	GL	GL Den.	p
Lambda de Wilks	0.293	2.68	12	38	0.0115
Traza de Pillai	0.798	2.21	12	40	0.0381
Traza de Hotelling-Lawley	2.099	3.22	12	26.63	0.0059
Raíz Máxima de Roy	1.938	6.46	12	20	0.0006

las de Mn. Esto significa que las concentraciones foliares bajas de Mn se relacionan con incidencia y severidad mayores.

De acuerdo con Huber *et al.* (2012), la influencia del Ca sobre la incidencia puede estar afectada por el ácido abscísico, pues dicho nutrimento actúa como segundo mensajero y promueve la cantidad de ácido abscísico y etileno que provoca la caída de las acículas; o quizás por la reducción de la conductancia al mantener los estomas “cerrados”. La deficiencia de potasio aumenta la susceptibilidad de las plantas huésped a los parásitos obligados y facultativos (Huber *et al.*, 2012). Evidencias existen de que severidad e incidencia de *P. gaeumannii* se asocian en forma negativa con la concentración nutrimental foliar del Mn en el abeto Douglas, aunque no hay relación con la concentración foliar de Ca (Lan *et al.*, 2019).

Hay estudios sobre los efectos de N y K en la inducción de resistencia a enfermedades vegetales, pero los resultados para N pueden ser inconsistentes, y algunos son controvertidos por varias razones: no se establecen claramente si el suministro de estos nutrimentos era bajo, óptimo o excesivo, o si el efecto dependía de la fuente del N suministrado (*i.e.* amonio o nitrato); o no se consideraron las diferencias en los patrones de infección entre parásitos obligados y facultativos (Huber *et al.*, 2012). Amtmann *et al.* (2008) realizaron una compilación donde muestran que la aplicación de fertilizantes potásicos disminuyó la incidencia de enfermedades en la mayoría de los estudios, pero en otras investigaciones no se tuvo ningún efecto e inclusive se observó un efecto adverso en algunos experimentos.

Las enfermedades bióticas pueden provocar una interrupción grave de la absorción y la translocación de nutrimentos, pero también pueden modificar las concentraciones nutrimentales en los tejidos vegetales (Walters, 2015). Una enfermedad que podría provocar un aumento en los niveles de ácido abscísico es el amarillamiento letal del cocotero, causada por fitoplasmas, la cual conduce al cierre permanente de los estomas y origina disminución de la fotosíntesis, clorosis de las hojas e incluso, la muerte de las plantas (Walters, 2015).

En los diagramas de cajas se observa la relación del contenido nutrimental foliar con el nivel de transparencia de la copa; los árboles con mayor nivel de raleo tuvieron un contenido nutrimental foliar menor en comparación con los niveles de transparencia medio

#### Cuadro 4. Correlaciones entre las variables originales y variables canónicas.

Table 4. Correlations between original variables and canonic variables.

Variables originales	Variables canónicas	
	VCT	VCN
Severidad (Y1)	<b>0.58</b>	<b>0.48</b>
Incidencia (Y2)	<b>0.99</b>	<b>0.83</b>
Nitrógeno (X1)	-0.13	-0.15
Potasio (X2)	0.23	0.27
Calcio (X3)	<b>0.48</b>	<b>0.57</b>
Magnesio (X4)	0.06	0.07
Cobre (X5)	-0.04	-0.05
Manganeso (X6)	<b>-0.42</b>	<b>-0.51</b>
Boro (X7)	0.34	<b>0.40</b>

VCT: variable canónica asociada al tizón suizo; VCN: variable canónica asociada al contenido nutrimental foliar. ♦ VCT: canonic variable associated with SNC; VCN: canonic variable associated with leaf nutrient content.

by Cu, Mg and N. As the nutrient canonic variable (VCN) increased, leaf Ca and B concentrations also increased, but Mn concentrations decreased. This means that low leaf Mn concentrations are associated with higher incidence and severity.

According to Huber *et al.* (2012), the effect of Ca on incidence may be influenced by abscisic acid, since Ca acts as a second messenger and promotes amounts of abscisic acid and ethylene that cause needles to drop, or possibly, there is a reduction in conductance because the stomata are obstructed. Potassium deficiency increases susceptibility of host plants to obligate and facultative parasites (Huber *et al.*, 2012). There is evidence that *P. gaeumannii* severity and incidence is associated negatively with leaf Mn nutrient concentration in Douglas fir, but there is no relation to leaf Ca concentration (Lan *et al.*, 2019).

Studies have been conducted on the effects of N and K on induction of resistance to plant diseases, but the results for N can be inconsistent. Some results are controverted for several reasons. They do not clearly establish whether nutrient supply was low, optimal or excessive or whether the effect depended on the N supply source (*i.e.* ammonium or nitrate); nor did they consider differences in the infection patterns between obligate or facultative parasites (Huber *et al.*, 2012). Amtmann *et al.* (2008) compiled studies, most of which show that application of potassium

y bajo, y el efecto fue más notorio con el contenido de Ca (Figura 4). El Ca se asocia con los niveles de transparencia de la copa, y es probable que tuviera un efecto supresivo contra la caída de follaje, la cual se relaciona con la presencia del tizón suizo en el sitio; la densidad de la copa es un buen indicador de la tolerancia a esta enfermedad (Temel *et al.*, 2004).

El Mn tiene una influencia positiva en el control de enfermedades y puede ser la razón de la correlación negativa con la incidencia del tizón y su variable canónica. El Mn es probablemente el micronutriente más estudiado en cuanto al desarrollo de la resistencia/tolerancia a enfermedades foliares y de raíz (Graham y Webb, 1991). Dicho nutriente es importante en la síntesis de clorofila y está involucrado en la activación de enzimas (como descarboxilasas y deshidrogenasas) (Núñez, 2013). La función de este elemento en la resistencia/tolerancia a enfermedades está relacionada con la ruta metabólica del ácido shikímico (Huber y Haneklaus, 2007). El Mn interviene como cofactor para varias enzimas en la biosíntesis de metabolitos secundarios asociados a ellas, como flavonoides, fitoalexinas, precursores de la lignina e inclusive forma parte del ingrediente activo de algunos fungicidas (Dordas, 2008). Velázquez-

fertilizers decreased the incidence of diseases, but other studies did not show any effect, or even showed an adverse effect in some of the experiments.

Biotic diseases can cause serious interruption to nutrient absorption and translocation, but they can also modify nutrient concentration in plant tissues (Walters, 2015). A disease that can cause an increase in abscisic acid is the lethal yellowing of the coconut tree caused by phytoplasmas, which leads to permanent closing of the stomata, and originates a decrease in photosynthesis, leaf chlorosis and even death of the plants (Walters, 2015).

The box diagrams show the relation of leaf nutrient content and crown transparency. The trees that were more transparent had a lower content of nutrients than those that had medium and low transparency. The effect was most notable with Ca content (Figure 4). Ca is associated with levels of crown transparency, and it is likely that it has a suppressive effect on foliage abscission, which is related to presence of SNC in the site. Crown density is a good indicator of tolerance to this disease (Temel *et al.*, 2004).

Mn has a positive influence in controlling disease and could be the reason for the negative correlation between SNC incidence and its canonic variable.

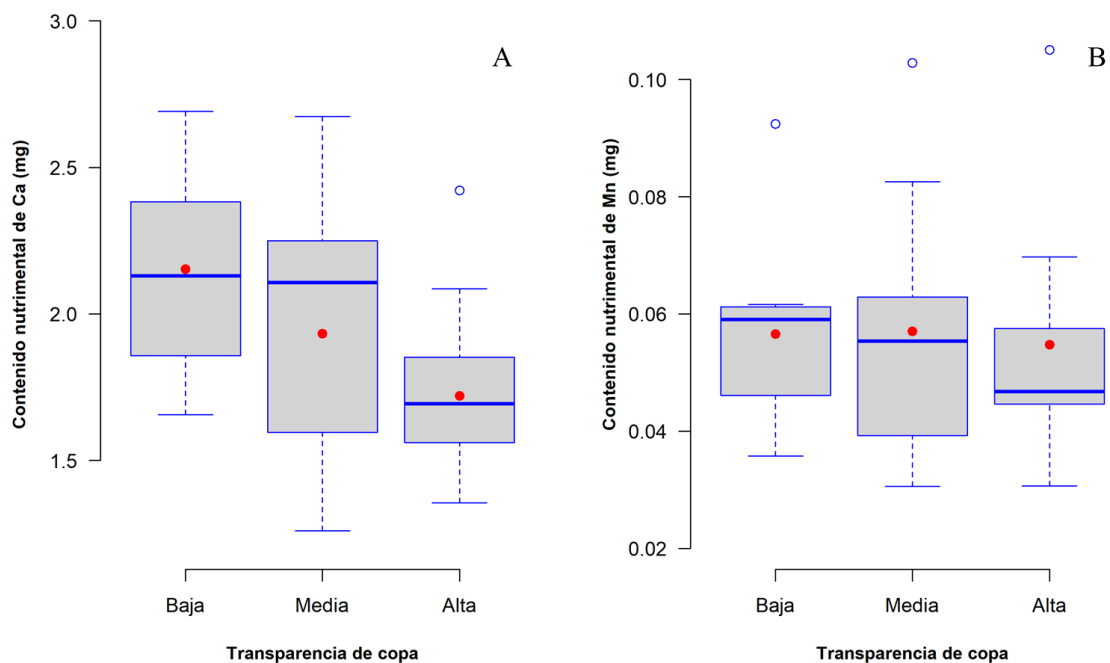


Figura 4. Contenido nutricional foliar de A) Ca, y B) Mn para cada nivel de transparencia de copa en *P. menziesii*.  
Figure 4. Leaf nutrient content of A) Ca and B) Mn for each level of *P. menziesii* crown transparency.

Mendoza *et al.* (2017) documentaron el efecto inhibitorio *in vitro* del Mn, junto con Cu y Zn, sobre una cepa de *P. gaeumannii* en México.

La aplicación de Mn, Cu y B activa los mecanismos SAR (*systemic acquired resistance*, resistencia sistémica adquirida) y libera los cationes  $\text{Ca}^{2+}$  de las paredes celulares que interactúan con el ácido salicílico y activan el mecanismo de defensa en las plantas (Gupta *et al.*, 2017). Al aumentar la incidencia de la enfermedad, la concentración de Mn en los tejidos del hospedero disminuye (relación inversamente proporcional). Mecanismos diversos se proponen para explicar la función del Mn en la resistencia a enfermedades, como la lignificación, la síntesis de fenoles solubles, la inhibición de aminopeptidasas, la fotosíntesis (severamente reducida por la deficiencia de Mn), y la inhibición directa de patógenos, ya que estos últimos lo requieren en cantidad mucho menor (Graham and Webb, 1991).

El Ca forma parte de los metales alcalinos y alcalinotérreos, funciona como mensajero secundario y es importante para la división celular y en la estabilidad de la membrana y pared celular (Núñez, 2013). Cuando hay una invasión de patógenos, de inmediato hay un cambio en el potencial de membrana y aumenta en el citoplasma la concentración de Ca, el cual actúa como un segundo mensajero. Por lo tanto, las proteínas transportadoras de Ca pueden estar involucradas en las primeras señales de defensa (Yang *et al.*, 1997). También el Ca es esencial para la estabilidad de las biomembranas, la deficiencia de Ca aumenta el flujo de salida de los compuestos de bajo peso molecular (como azúcares) del citoplasma hacia el apoplasto, donde estos compuestos pueden estar disponibles para el uso de patógenos; además la actividad de enzimas como las poligalacturonasas se inhibe por el Ca (Huber *et al.*, 2012).

De acuerdo con Huber *et al.* (2012), el aumento de la concentración de K no conduce a un incremento en la infección o intensidad de una enfermedad (o viceversa), siempre que la concentración de Ca sea alta; por lo tanto, la razón K:Ca debe mantenerse cercana a uno para minimizar los daños.

### Análisis nutrimental

La comparación de los valores iniciales con los finales, con base en las concentraciones críticas de Ballard y Carter (1986), mostró un aumento en las

Mn is probably the most studied micronutrient in resistance / tolerance development to leaf and root diseases (Graham and Webb, 1991). Mn is important in the synthesis of chlorophyll and is involved in enzyme activity (such as decarboxylases and dehydrogenases) (Nuñez, 2013). The function of this element in resistance/tolerance to disease is related to the metabolic route of shikimic acid (Huber and Haneklaus, 2007). Mn intervenes as a cofactor for several enzymes in the biosynthesis of Mn-associated secondary metabolites, such as flavonoids, phytoalexins, and lignin precursors, and it also forms part of the active ingredient of some fungicides (Dordas, 2008). Velázquez-Mendoza *et al.* (2017) reported the *in vitro* inhibitory effect of Mn, altogether with Cu and Zn, on a *P. gaeumannii* strain in Mexico.

Application of Mn, Cu and B activates SAR (*systemic acquired resistance*) mechanisms and releases  $\text{Ca}^{2+}$  cations from the cell walls that interact with salicylic acid and activate plant defense mechanisms (Gupta *et al.*, 2017). When incidence of the disease increases, the Mn concentration in host tissues decreases (inversely proportional). Diverse mechanisms are proposed to explain the function of Mn in resistance to disease, such as lignification, synthesis of soluble phenols, inhibition of aminopeptidasas, photosynthesis (which is severely reduced by Mn deficiency), and direct inhibition of the pathogens; since they require Mn in a much lower amount (Graham and Webb, 1991).

Ca belongs to the group of alkali and alkaline-earth metals. It functions as a secondary messenger and is important for cell division and stability of cell membrane and cell wall (Nuñez, 2013). When pathogens invade, there is an immediate change in the membrane potential and Ca concentration increases in the cytoplasm. Therefore, Ca-transporting proteins may be involved in the first signals of defense (Yang *et al.*, 1997). Also, Ca is essential for stability of bio-membranes; Ca deficiency increases the outflow of compounds of low molecular weight (such as sugars) from the cytoplasm towards the apoplast, where these compounds are available for use by the pathogen. Moreover, the activity of enzymes, such as polygalacturonase, is inhibited by Ca (Huber *et al.*, 2012).

According to Huber *et al.* (2012), an increase in K does not lead to an increase in infection or disease

concentraciones de los nutrimentos aplicados (N y K). En el tratamiento de urea se sobrepasó la concentración crítica, y en el de sulfato de potasio hubo un aumento considerable respecto al inicio del experimento; además hubo un efecto antagónico entre los fertilizantes y los fungicidas (Cuadro 5). El tratamiento de urea fue el único que alcanzó la concentración crítica de N; en cambio, P, K y Mg fueron deficientes para todos los tratamientos y el Ca se mantuvo en un estado de suficiencia en todos los tratamientos.

Cuando los plaguicidas se combinan con fertilizantes, aditivos u otros plaguicidas, pueden causar interacciones químicas, como sinergismo, aditividad y antagonismo (Cereza *et al.*, 2019). En un experimento *in vitro* desarrollado por Padhy *et al.* (2014) para *Cylindrospermum* sp., los fertilizantes químicos mezclados con insecticidas fueron antagonistas.

## CONCLUSIONES

La diferencia entre los tratamientos, sobre la incidencia y severidad del tizón suizo no fue significativa, pero la concentración foliar de nitrógeno y la incidencia del tizón mostraron una correlación directamente proporcional.

Los contenidos de calcio y manganeso fueron las variables nutrimentales principales en asociación inversa con la severidad e incidencia de la enfermedad. Los contenidos de magnesio, cobre y nitrógeno se correlacionaron en menor medida.

intensity (or *vice versa*), when Ca concentration is high; thus, the K:Ca ratio should be near one to minimize damages.

## Nutrient analysis

Comparison of initial and final values, based on Ballard and Carter's (1986) critical concentrations, showed an increase in concentrations of the applied nutrients (N and K). In the urea treatment, N surpassed the critical concentration, and in the potassium sulphate treatment, there was a notable increase relative to the concentration at the beginning of the experiment. Moreover, there was an antagonistic effect between the fertilizers and fungicides (Table 5). The urea treatment was the only one that reached the critical N concentration, while P, K and Mg were deficient in all the treatments, and Ca was sufficient in all the treatments.

When pesticides combine with fertilizers, additives or other pesticides, chemical interactions, such as synergism, additivity and antagonism, can occur (Cereza *et al.*, 2019). In an *in vitro* experiment conducted by Padhy *et al.* (2014) on *Cylindrospermum* sp., chemical fertilizers mixed with insecticides were antagonistic.

## CONCLUSIONS

Differences among the fertilizer treatments on incidence and severity of Swiss needle cast were not

**Cuadro 5. Diagnóstico nutrimental, de acuerdo con las concentraciones críticas de Ballard y Carter (1986).**

**Table 5. Nutrient diagnosis, according to Ballard and Carter's (1986) critical concentration.**

Referencia/tratamiento	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	Ca (ppm)	Mg (ppm)
Ballard y Carter (1986)	1.450	0.150	0.800	0.250	0.120
Análisis preliminar (2017)	1.435 <sup>§</sup>	0.150 <sup>‡</sup>	0.320 <sup>§</sup>	0.263 <sup>†</sup>	0.107 <sup>§</sup>
Testigo (T1)	1.318 <sup>§</sup>	0.115 <sup>§</sup>	0.383 <sup>§</sup>	0.383 <sup>†</sup>	0.091 <sup>§</sup>
Prochloraz + Sulfato de Potasio (T2)	1.342 <sup>§</sup>	0.111 <sup>§</sup>	0.402 <sup>§</sup>	0.359 <sup>†</sup>	0.103 <sup>§</sup>
Prochloraz (T3)	1.344 <sup>§</sup>	0.105 <sup>§</sup>	0.378 <sup>§</sup>	0.298 <sup>†</sup>	0.091 <sup>§</sup>
Prochloraz + Urea (T4)	1.418 <sup>§</sup>	0.108 <sup>§</sup>	0.390 <sup>§</sup>	0.334 <sup>†</sup>	0.098 <sup>§</sup>
Propiconazol + Sulfato de Potasio (T5)	1.318 <sup>§</sup>	0.110 <sup>§</sup>	0.387 <sup>§</sup>	0.329 <sup>†</sup>	0.103 <sup>§</sup>
Propiconazol (T6)	1.330 <sup>§</sup>	0.126 <sup>§</sup>	0.368 <sup>§</sup>	0.336 <sup>†</sup>	0.091 <sup>§</sup>
Propiconazol + Urea (T7)	1.365 <sup>§</sup>	0.124 <sup>§</sup>	0.385 <sup>§</sup>	0.401 <sup>†</sup>	0.106 <sup>§</sup>
Sulfato de Potasio (T8)	1.088 <sup>§</sup>	0.123 <sup>§</sup>	0.454 <sup>§</sup>	0.380 <sup>†</sup>	0.108 <sup>§</sup>
Urea (T9)	1.505 <sup>†</sup>	0.114 <sup>§</sup>	0.404 <sup>§</sup>	0.337 <sup>†</sup>	0.087 <sup>§</sup>

†: suficiente; ‡: adecuado; §: deficiente. ◆ †: sufficient; ‡: adequate; §: deficient.

Entre los tratamientos aplicados y sus efectos en la concentración y el contenido foliar nutrimental se observaron antagonismos y sinergismos. Los fungicidas influyeron en la absorción, transporte y asimilación de los nutrimentos. Este es el primer estudio en México, sobre el tipo de asociación entre una enfermedad foliar forestal y el contenido nutrimental foliar de su hospedero.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento académico y de investigación otorgado a I.F. Quiroz-Ibañez. Al Ing. León Jorge Castaños Martínez y al Ing. Salvador Castro Zavala, por el permiso para llevar a cabo esta investigación en la Reserva Forestal Multifuncional "El Manantial" S.C., con el apoyo de su personal de campo. A los Ingenieros Claudia de los Ángeles López Arias, Sergio Arturo Tafoya Gallardo y Osiel Castillo Olivas por el apoyo en laboratorio.

#### LITERATURA CITADA

- Amtmann, A., S. Troufflard, and P. Armengaud. 2008. The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants. *Physiol. Plant.* 133: 682-691.
- Ballard, T. M., and R. E. Carter. 1986. Evaluating forest stand nutrient status. B.C. Ministry of Forests Land Management Report No. 20, Queen's Printer Publications. Victoria, British Columbia. 60 p.
- Binkley, D., and R. F. Fisher. 2013. *Ecology and Management of Forest Soils*. 4th ed. Wiley-Blackwell. Oxford. 347 p.
- Cereza, T. V., F. S. Carlos, C. Ogoshi, F.M. Tomita, G. C. Soares, and A. D. R. Ulguim. 2019. Antagonism between fungicide-insecticide treatments and dietholate in irrigated rice seeds. *J. Seed Sci.* 41: 13-21.
- Cibrián T., D., O. A. Pérez-Vera, S. E. García D., V. D. Cibrián L., J. Cruz J., y G. Hernández A. 2014. Tizón suizo *Phaeo-cryptopus gaemannii* Rhode Petrak en *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca* Beissn. Mayr. *Rev. Mex. Cienc. For.* 5: 104-118.
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). 2017. Ficha informativa sobre árboles de navidad. Producción nacional de árboles de navidad. Coordinación general de producción y productividad gerencia de desarrollo de plantaciones forestales comerciales. 4 p.
- Domínguez A., F. A. 2015. Integración de Conocimientos de *Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco en México. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 374 p.
- Dordas, C. 2008. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustainable Develop.* 28: 33-46.
- El-Hajj, Z., K. Kavanagh, C. Rose, and Z. Kanaan-Atallah. 2004. Nitrogen and carbon dynamics of a foliar biotrophic fungal parasite in fertilized Douglas-fir. *New Phytol.* 163: 139-147.
- Etchevers B., J. D. 1999. Técnicas de diagnóstico útiles en la medición de la fertilidad del suelo y el estado nutrimental de los cultivos. *Terra Latinoam.* 17: 209-219.
- FSC (Forest Stewardship Council). 2017. FSC List of 'highly hazardous' pesticides. Forest Stewardship Council, A.C. 22 p.
- Graham, R. D., and M. J. Webb. 1991. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. *In: Mortvedt, J. J., F. R. Cox, L. M. Shuman, and R. M. Welch (eds.). Micronutrients in Agriculture*. 2nd ed. Soil Science Society of America. USA. pp: 329- 370.
- Gupta, N., S. Debnath, S. Sharma, P. Sharma, and J. Purohit. 2017. Role of nutrients in controlling the plant diseases in sustainable agriculture. *In: Meena, V. S., P. K., Mishra, J. K., Bisht, and A. Pattanayak (eds.). Agriculturally Important Microbes for Sustainable Agriculture, Volume 2: Applications in Crop Production and Protection*. Springer, Singapore. pp: 217-262.
- Hansen, E. M., J. Stone, B. Capitano, R. Rosso, W. Sutton, I. Winton, A. Kanaskie, and M. McWilliams. 2000. Incidence and impact of Swiss needle cast in forest plantations of Douglas-fir in coastal Oregon. *Plant Dis.* 84: 773-778.
- Hansen, E. M., y K. J. Lewis. 2003. *Plagas y Enfermedades de las Coníferas*. APS. Mundi-Prensa. España. 101 p.
- Huber, D. M., and R. D. Graham. 1999. The role of nutrition in crop resistance and tolerance to disease. *In: Rengel, Z. (ed.). Mineral Nutrition of Crops Fundamental Mechanisms and Implications*. Food Product Press, New York. pp: 205-226.
- Huber, D. M., and S. Haneklaus. 2007. Managing nutrition to control plant disease. *Landbauforsch. Volk.* 57: 313-322.
- Huber, D., V. Römhel, and M. Weinmann. 2012. Relationship between nutrition, plant diseases and pests. *In: Marschner, H. (ed). Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3rd ed. Academic Press. London. pp: 283-298.

—End of the English version—



- Lan, Y. H., Shaw, D. C., G. Ritóková, and J. A. Hatten. 2019. Associations between Swiss needle cast severity and foliar nutrients in young-growth Douglas-fir in coastal western Oregon and southwest Washington, USA. *For. Sci.* 20: 1-6.
- Manter, D. K., B. J. Bond, K. L. Kavanagh, P. H. Rosso, and G. M. Filip. 2000. Pseudothecia of Swiss needle cast fungus, *Phaeocryptopus gaeumannii*, physically block stomata of Douglas fir, reducing CO<sub>2</sub> assimilation. *New Phytol.* 148: 481-491.
- McRoberts, N., Hughes, G., and Madden, L. V. 2003. The theoretical basis and practical application of relationships between different disease intensity measurements in plants. *Ann. Appl. Biol.* 142: 191-211.
- Morales, R., E. Sanfuentes, I. Vives, y E. Molina. 2012. *Phaeocryptopus gaeumannii*, patógeno causante del “swiss needle cast” en *Pseudotsuga menziesii*: antecedentes de su biología, medidas de control y situación en Chile. *Bosque.* 33: 127-134.
- Mulvey, R. L., D. C. Shaw, and D. A. Maguire. 2013. Fertilization impacts on Swiss needle cast disease severity in western Oregon. *For. Ecol. Manag.* 287: 147-158.
- Núñez E., R. 2013. El suelo como medio natural en la nutrición de los cultivos. In: Alcántar, G. G., y L. I. Trejo T. (eds). *Nutrición de Cultivos*. BBB. Biblioteca Básica de Agricultura. México. pp: 94-149.
- Padhy, R. N., N. Nayak, and S. Rath. 2014. Antagonism at combined effects of chemical fertilizers and carbamate insecticides on the rice-field N<sub>2</sub>-fixing cyanobacterium *Cylindrospermum* sp. *in vitro*. *Interdiscip. Toxicol.* 7: 5-11.
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>. (Consulta: mayo 2019).
- SAS Institute Inc. 2013. SAS® 9.4 Statements: Reference. Cary, NC: SAS Institute Inc. 460 p.
- Stone, J. K., B. R. Capitano, and J. L. Kerrigan. 2008. The histopathology of *Phaeocryptopus gaeumannii* on Douglas-fir needles. *Mycologia* 100: 431-444.
- Temel, F., G. R. Johnson, and J. K. Stone. 2004. The relationship between Swiss needle cast symptom severity and level of *Phaeocryptopus gaeumannii* colonization in coastal Douglas-fir *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*. *For. Pathol.* 34: 383-394.
- Velázquez-Mendoza, J., O. J. Salgado-Feregrino, M. D. J. Yáñez-Morales, y M. Jiménez-Casas. 2017. Primer reporte *in vitro* del efecto de nutrimentos y del silicio en el crecimiento de *Phaeocryptopus gaeumannii*, un patógeno de *Pseudotsuga menziesii*. *Rev. Mex. Fitopatol.* 35: 139-149.
- Videira, S. I. R., J. Z. Groenewald, C. Nakashima, U. Braun, R. W. Barreto, P. J. G. M. de Wit, and P. W. Crous. 2017. Mycosphaerellaceae – chaos or clarity? *Studies Mycol.* 87: 257-421.
- Walters, D. 2015. *Physiological Responses of Plants to Attack*. John Wiley & Sons. New Jersey. Sons. 229 p.
- Yang, Y., J. Shah, and D. F. Klessig. 1997. Signal perception and transduction in plant defense responses. *Genes Dev.* 11: 1621-1639.

