



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES**

**TOLERANCIA AL TIZÓN SUIZO EN  
UNA PLANTACIÓN COMERCIAL DE  
ÁRBOLES DE NAVIDAD EN  
AQUIXTLA, PUEBLA**

**IVÁN FERMÍN QUIROZ IBÁÑEZ**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO**

**2019**

## **CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe, **“IVÁN FERMÍN QUIROZ IBÁÑEZ”**, alumno de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor **“DR. VÍCTOR MANUEL CETINA ALCALÁ”**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **“TOLERANCIA AL TIZÓN SUIZO EN UNA PLANTACIÓN COMERCIAL DE ÁRBOLES DE NAVIDAD EN AQUIXTLA, PUEBLA”**, y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 12 de junio de 2019.

---

Firma del alumno (a)

Víctor Manuel Cetina Alcalá

---

Vo.Bo. del consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **Tolerancia al tizón suizo en una plantación comercial de árboles de navidad en Aquixtla, Puebla**, realizada por el alumno: **Iván Fermín Quiroz Ibáñez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS  
CIENCIAS FORESTALES**

**CONSEJO PARTICULAR**

**CONSEJERO**



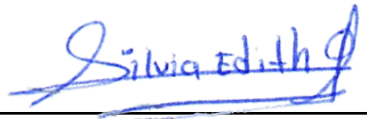
DR. VÍCTOR MANUEL CETINA ALCALÁ

**ASESOR**



DR. MIGUEL ÁNGEL LÓPEZ LÓPEZ

**ASESOR**



DRA. SILVIA EDITH GARCÍA DÍAZ

**Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México. Junio de 2019.**

# **TOLERANCIA AL TIZÓN SUIZO EN UNA PLANTACIÓN COMERCIAL DE ÁRBOLES DE NAVIDAD EN AQUIXTLA, PUEBLA**

**Iván Fermín Quiroz Ibáñez, M. en C.**

**Colegio de Postgraduados, 2019**

## **RESUMEN**

Las plantaciones de árboles de navidad con *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco ocupan actualmente 10 % de la superficie total de este tipo de plantaciones en México. El tizón suizo es una enfermedad propia de este género, originada por el hongo *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petrak. Los principales síntomas incluyen follaje clorótico y abscisión prematura de acículas infectadas. El objetivo de este estudio fue determinar la relación e impacto del tizón suizo con la transparencia de copa, evaluar el efecto de aplicaciones de fungicidas químicos y fertilizantes inorgánicos en el nivel de variación del grado y dinámica temporal de infestación del tizón suizo y evaluar la relación entre la fertilización química y el estado nutrimental de los árboles con los niveles de severidad e incidencia de la enfermedad. El estudio se estableció en el predio “Reserva Multifuncional El Manantial” en Aquixtla, Puebla. Los tratamientos aplicados fueron fertilización con urea y sulfato de potasio y control químico con propiconazol y prochloraz. Se utilizó un diseño experimental factorial  $3^2$  con un arreglo en bloques al azar generalizado tomando como factor de confusión o bloqueo el nivel visual de transparencia de copa asociado al tizón suizo. La retención de acículas fue fomentada principalmente por los tratamientos propiconazol y prochloraz con sulfato de potasio, pero desfavorecida por la interacción urea con prochloraz y el tratamiento con urea sin fungicida. El sulfato de potasio aumentó significativamente la retención de acículas. El índice de colonización fue mayor con la combinación propiconazol con sulfato de potasio. La interacción prochloraz con sulfato de potasio aumentó significativamente el área foliar media. El área bajo la curva para los valores de cohorte de edad mostró diferencias en todas las variables estudiadas; la retención de acículas y el área foliar son mayores en la cohorte 2017, mientras que el índice de colonización es mayor en el follaje 2016. En el caso de los fertilizantes, la aplicación de urea disminuye la retención de acículas. Ambos fungicidas tienen un efecto mejor en comparación con el testigo en la retención

del follaje, aunque es mejor el propiconazol. Debido a que el índice de colonización no difirió significativamente entre los grupos de transparencia de copa, las diferencias en las acículas retenidas se pueden atribuir a la tolerancia. El modelo logístico se ajustó mejor a los datos de número de pseudotecios para todos los tratamientos, aunque no existen diferencias significativas entre las tasas relativas de incremento de la enfermedad. La transparencia de copa, asociada a la cantidad de follaje retenido, redujo el crecimiento del diámetro basal, la longitud del brote y el área foliar. El desarrollo de los pseudotecios principalmente se acumula en la punta y parte media de cada acícula. Se demuestra que la cantidad de pseudotecios en las acículas de *P. menziesii* expresado como severidad, incidencia o el producto de ambos tienen una relación inversa proporcional con la retención del follaje. De acuerdo con el análisis de correlaciones canónicas de los elementos nutrimentales, la primera correlación resultó estadísticamente significativa y explica el 92 % de la variabilidad. La concentración foliar de nitrógeno y la incidencia del tizón tienen una relación directamente proporcional. Las variables nutrimentales asociadas a la severidad e incidencia son el contenido de calcio y manganeso, principalmente. El contenido de magnesio, cobre y nitrógeno se correlacionaron en menor medida. Se observaron antagonismos y sinergismos entre los tratamientos aplicados, los cuales afectaron la concentración, contenido y biomasa foliar. El análisis de vectores muestra que los fungicidas influyen en la absorción, transporte y asimilación de los nutrientes. Se recomienda realizar evaluaciones en un año o más, dado que el ciclo biológico de este patógeno es de 12 meses.

**Palabras clave:** *Pseudotsuga menziesii*, *Phaeocryptopus gaeumannii*, Nutrición forestal, Transparencia de copa.

# **TOLERANCE TO THE SWISS NEEDLE CAST IN A COMMERCIAL CHRISTMAS TREE PLANTATION AT AQUIXTLA, PUEBLA**

**Iván Fermín Quiroz Ibáñez, M. en C.**

**Colegio de Postgraduados, 2019**

## **ABSTRACT**

Christmas tree plantations with *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco currently occupy 10% of the total area of this type of plantation in Mexico. Swiss needle cast (SNC) is a disease associated to this genus, which is caused by the fungus *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petrak. The main symptoms include chlorotic foliage and premature abscission of infected needles. The objectives of this study were to determine the relationship and impact of SNC on crown transparency, evaluate the effect of applications of chemical fungicides and inorganic fertilizers on the level of variation of the level and temporal dynamics of SNC infestation, and evaluate the relationship between the chemical fertilization and the nutrient status of the trees with severity and incidence of the disease. The study was established in the "Multifunctional Property Reserve El Manantial" in Aquixtla, Puebla. The treatments applied were fertilization with urea and potassium sulfate and chemical control with propiconazol and prochloraz. A 3<sup>2</sup> factorial experimental design with a generalized randomized block arrangement was used, taking as a confounding or blocking factor the visual level of crown transparency associated with SNC. Needle retention was promoted mainly by the treatments propiconazol and prochloraz with potassium sulphate, and it was reduced by the interaction of urea with prochloraz and the treatment with urea alone. Potassium sulfate significantly increased needle retention. Colonization index was higher when propiconazol with potassium sulfate was applied. The prochloraz interaction with potassium sulfate significantly increased leaf area. The area under the curve for the age cohort values showed differences in all the variables studied; needle retention and leaf area are higher in the 2017 cohort, while the colonization index is higher in foliage 2016. In the case of fertilizers, the application of urea decreased the needle retention. Trees receiving both fungicides showed better needle retention than control ones, although propiconazol was the best. Because the colonization index did not differ significantly

between the crown transparency groups, the differences in needle retention can be attributed to tolerance. Number of pseudothecia fitted well to the logistic model for all treatments, although no significant differences were found for the relative rates of increase of the disease. The crown transparency, associated with the needle retention, reduced the growth of the basal diameter, length of the shoot and foliar area. Pseudothecia mainly accumulated in the tip and middle needle. The amount of pseudothecia on *P. menziesii* needles expressed as severity, incidence or the product of both inversely related to foliage retention. According to the analysis of canonical correlations of the nutritional elements, the first correlation was statistically significant and explained 92% of the variability. Foliar concentration of nitrogen was directly proportional to the incidence of SNC. Calcium and manganese were the main nutrients associated with disease severity and incidence. Contents of magnesium, copper, and nitrogen showed a lower correlation with the disease variables mentioned above. Antagonisms and synergisms were observed between the treatments applied, which affected nutrient concentration, content and foliar biomass. Vector analysis showed that fungicides influence the absorption, transport and assimilation of nutrients. It is recommended to carry out evaluations over a round year or more, given that the biological cycle of this pathogen takes around 12 months

**Keywords:** *Pseudotsuga menziesii*, *Phaeocryptopus gaeumannii*, Forest nutrition, Crown transparency.

## AGRADECIMIENTOS

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento de mis estudios de postgrado.*

*Al Colegio de Postgraduados, en especial al Programa en Ciencias Forestales, por todas las facilidades recibidas para realizar mis estudios de maestría.*

*Al Ing. León Jorge Castaños Martínez e Ing. Salvador Castro Zavala, por el invaluable apoyo recibido para llevar a cabo esta investigación en la Reserva Forestal “El Manantial” S.C., así como a todo su personal de campo, en especial a Faustino.*

*A mi consejero y director de tesis el Dr. Víctor M. Cetina Alcalá por apoyarme e impulsarme a ser mejor persona; por todos sus consejos brindados y su calidad humana. Muchas gracias de corazón por el tiempo brindado.*

*A los colegas forestales: Ing. Ricardo Rafael Hernández Valera, Ing. Luis Alberto Parra Piedra, Ing. Ricardo Martínez Moshan e Ing. Margarita Flores Carvajal, por todo el apoyo en mi investigación y por compartir buenos momentos durante la maestría.*

*A mis amigos Osiel Castillo Olivas, Sergio Arturo Tafoya Gallardo, Juan Carlos Quiroz Pérez por su amistad y el apoyo brindado. Gracias por todo su apoyo.*

*Al Dr. Miguel Ángel López López por sus enseñanzas y apoyo recibido durante mi estancia en la maestría, siempre fungiendo como un excelente asesor y ser humano. Gracias de corazón.*

*A la Dra. Silvia Edith García Díaz, por orientarme y compartir sus conocimientos de fitopatología forestal, además de todo su apoyo para la elaboración de este trabajo de investigación. Muchas gracias.*

*Al Dr. Alejandro Velázquez Martínez por la revisión del escrito y sus acertados comentarios para la mejora de este trabajo, muchas gracias por su amable colaboración.*

*Al Dr. J. Jesús Vargas Hernández, por apoyarme en la mejora de esta investigación, del escrito y darme las facilidades para trabajar en el predio el manantial, por su calidad humana y profesional. Muchas gracias por su invaluable colaboración.*

*A la Dra. María del Pilar Rodríguez Guzmán por compartir sus conocimientos sobre epidemiología agrícola y su apoyo en el ajuste y comparación de los modelos de crecimiento utilizados en el capítulo I.*



*Al Dr. José G. Herrera Haro, por compartir sus conocimientos estadísticos en el área de modelos con mediciones repetidas en el tiempo.*

*A la Dra. Martha Patricia Chaires Grijalva por su colaboración en la revisión del capítulo II. Gracias por su invaluable amistad.*

## DEDICATORIA

*A mis padres María Guadalupe Ibáñez Cuevas y Fermín Quiroz Razo por ser los pilares en mi formación como ser humano. Un Orgullo ser su hijo.*

*A mis hermanas Claudia y Roxana, por apoyarme en todas las decisiones que he tomado. De igual manera a mis sobrinas María Fernanda y Daniela Sofía, por su cariño y aprecio.*

*A Angie, gracias por todo tu apoyo y dedicación durante todo este tiempo juntos, y más que nada por tu amor y cariño.*

*A mis Abuelos maternos Jesús Ibáñez Cortés † y María de los Ángeles Cuevas Magaña †, “Don Chuche y Doña Mary”, una especial dedicatoria que estuvieron siempre presentes, siendo un ejemplo de amor, lucha y esfuerzo para conseguir todo lo que se propusieron en esta vida.*

*A mi Abuelos paternos María Esther Razo Rodríguez † y Guadalupe Razo Ledesma, por su cariño y aprecio, gracias por todo su apoyo.*

*A toda la familia Ibáñez Cuevas y Quiroz Razo, sin excepción alguna, por todo el cariño y amor que siempre he sentido por parte de ustedes, son mi fortaleza, gracias de todo corazón.*

## CONTENIDO

<b>RESUMEN</b>	iv
<b>ABSTRACT</b>	vi
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	viii
<b>DEDICATORIA</b>	x
<b>LISTA DE CUADROS</b>	xiv
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	xv
<b>SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS</b>	xvii
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	1
Objetivo general	2
Objetivos específicos	2
Literatura citada	3
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	6
Plantaciones de árboles de navidad	6
<i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.) Franco	8
Distribución	9
Descripción botánica	10
Interacción Ambiente-planta-patógeno	10
Mecanismos de defensa al ataque de patógenos	11
Los nutrimentos y su efecto contra enfermedades	12
Tolerancia y resistencia a fitopatógenos	13
Problemática sanitaria	14
Tizón suizo ( <i>Phaeocryptopus gaeumannii</i> (T. Rohde) Petrak)	18
Distribución	19
Sintomatología	20
Biología del tizón suizo	21
Manejo	24
Literatura citada	27

<b>CAPITULO I. VARIACIÓN DEL GRADO Y DINÁMICA TEMPORAL DE LA INFESTACIÓN DEL TIZÓN SUIZO EN AQUIXTLA, PUEBLA</b>	<b>36</b>
1.1 Resumen	36
1.2 Abstract	38
1.3 Introducción	40
1.4 Materiales y métodos	41
1.4.1 Área de estudio	41
1.4.1.1 Altitud	42
1.4.1.2 Hidrografía	43
1.4.1.3 Clima	43
1.4.1.4 Vegetación	43
1.4.2 Diagnóstico nutrimental	44
1.4.3 Nivel de transparencia de copa y selección de fungicidas	45
1.4.4 Establecimiento del experimento	46
1.4.5 Variables evaluadas	47
1.4.5.1 Acículas retenidas y caídas	47
1.4.5.2 Índice de colonización	48
1.4.5.3 Área foliar	50
1.4.5.4 Diámetro basal	51
1.4.5.5 Longitud de brotes	51
1.4.6 Análisis estadístico	51
1.5 Resultados y discusión	52
1.5.1 Análisis de varianza mixto	52
1.5.2 ABCPE y modelos epidemiológicos	54
1.5.3 Efecto de la transparencia de copa	58
1.5.4 Estrato o sección de la acícula	59
1.5.5 Relación entre acículas retenidas y el índice de colonización	60
1.6 Conclusiones	61
1.7 Literatura citada	63

<b>CAPITULO II. ESTADO NUTRIMENTAL E INFESTACIÓN EN</b>	
<b><i>Pseudotsuga menziesii</i> POR EL TIZÓN SUIZO (<i>Phaeocryptopus gaeumannii</i>)</b>	
<b>EN AQUIXTLA, PUEBLA</b>	<b>69</b>
2.1 Resumen	69
2.2 Abstract	70
2.3 Introducción	71
2.4 Materiales y métodos	73
2.4.1 Identificación morfológica	73
2.4.2 Sitio y establecimiento experimental	73
2.4.3 Tratamientos	74
2.4.3.1 Dosis de fertilización	75
2.4.3.2 Dosis de fungicidas	76
2.4.4 Muestreo de foliar y análisis nutrimental	76
2.4.5 Evaluación de la incidencia y severidad	77
2.4.6 Análisis estadístico	77
2.5 Resultados y discusión	78
2.5.1 Identificación morfológica	78
2.5.2 Análisis de correlaciones canónicas (ACC) y ANDEVA	78
2.5.3 Análisis nutrimental y gráfico de vectores	86
2.6 Conclusiones	91
2.7 Literatura citada	92
<b>CONCLUSIONES GENERALES</b>	<b>100</b>

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Plagas y enfermedades reportadas para <i>P. menziesii</i> en México.	15
<b>Cuadro 2.</b> ANDEVA tipo III para las variables IC, ACR y Afmed por cohorte de edad del follaje.	53
<b>Cuadro 3.</b> Tasa de infección de la enfermedad ( $\beta_1$ ) evaluada de acuerdo con ajuste del modelo logístico.	55
<b>Cuadro 4.</b> Efecto de los tratamientos contra el tizón suizo utilizando el área bajo la curva.	56
<b>Cuadro 5.</b> Comparación de medias de Tukey para los factores de variación en términos de las variables de respuesta (ACR, IC y Afmed).	57
<b>Cuadro 6.</b> Efecto del nivel de transparencia de copa con el diámetro basal, área foliar y longitud de brote.	58
<b>Cuadro 7.</b> Resultados del análisis de suelo y diagnóstico con base en la NOM-021-RECNAT-2000 y Castellanos <i>et al.</i> (2000).	75
<b>Cuadro 8.</b> Tratamientos de fungicidas y fertilizantes aplicados en el experimento.	76
<b>Cuadro 9.</b> Grupos de variables asociadas mediante el análisis de correlaciones canónicas.	78
<b>Cuadro 10.</b> Análisis de correlación canónica y valores característicos.	81
<b>Cuadro 11.</b> Estadísticos multivariados para la primera correlación canónica.	81
<b>Cuadro 12.</b> Correlaciones entre las variables originales y variables canónicas.	82
<b>Cuadro 13.</b> Diagnóstico de acuerdo con las concentraciones críticas de Ballard y Carter (1986).	87

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Producción de árboles de navidad en el período (2002-2017): A) Superficie plantada y B) número de productores. 7
- Figura 2.** Distribución natural del género *Pseudotsuga* (Tomado de Farjon y Filer, 2013). 9
- Figura 3.** *Phaeocryptopus gaeumannii*: A) Pseudotecios bloqueando las estomas en la acícula, B) Pseudotecio maduro liberando ascas hialinas y C) Pseudotecio mostrando las ascosporas. 21
- Figura 4.** Ciclo de infección de *Phaeocryptopus gaeumannii* (Tomado de Stone *et al.*, 2010). 23
- Figura 5.** Ubicación del sitio de estudio y distribución de las unidades experimentales por categoría de transparencia de copa. 42
- Figura 6.** Nivel de transparencia de copa de los árboles: A) nivel bajo, B) nivel medio y C) nivel alto. 46
- Figura 7.** Conteo de acículas por cohorte de edad. 47
- Figura 8.** Acículas tomadas en cuenta para medir la incidencia (marca naranja) y severidad (marca roja). 49
- Figura 9.** Acículas por cohorte de edad: A) 2017 y B) 2016; el área evaluada para medir la severidad es de aproximadamente 0.001 cm<sup>2</sup>; aproximadamente hay 5000 estomas cm<sup>-2</sup>. 50
- Figura 10.** Dinámica temporal con respecto al número de pseudotecios por cada tratamiento. 54
- Figura 11.** Valores promedio para cada tratamiento por cada evaluación para la variable índice de colonización (IC, %). 56
- Figura 12.** Número de pseudotecios en cada sección o estrato de la acícula. 59
- Figura 13.** Relación entre las acículas retenidas y el logaritmo natural del índice de colonización con datos promedio por muestreo y la cohorte de edad del follaje. 60
- Figura 14.** Relación entre las acículas retenidas y el logaritmo natural del índice de colonización y la cohorte de edad del follaje con datos totales. 61

- Figura 15.** Matriz de diagramas de dispersión-correlación del contenido nutrimental foliar y la infestación del tizón suizo. 80
- Figura 16.** Contenido foliar de A) Ca y B) Mn para cada nivel de transparencia de copa en *P. menziesii*. 84
- Figura 17.** Nomogramas para los macronutrientes y micronutrientes con datos finales del experimento con la aplicación de fertilizantes en mayo de 2018 de una plantación de árboles de navidad en Aquixtla, Puebla. 90



## SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

<b>%</b>	Porcentaje
<b>®</b>	Marca registrada
<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>µm</b>	Micrómetros
<b>ACC</b>	Acículas caídas
<b>ACR</b>	Acículas retenidas
<b>Afmed</b>	Área foliar media
<b>cm</b>	Centímetros
<b>cm<sup>2</sup></b>	Centímetros cuadrados
<b>Db</b>	Diámetro basal
<b>dS</b>	Decisiemens
<b>FSC</b>	Forest Stewardship Council: Consejo de Administración Forestal
<b>g</b>	Gramos
<b>ha</b>	Hectáreas
<b>i.e.</b>	<i>id est</i> (Esto es, Es decir)
<b>IC</b>	Índice de colonización
<b>Inc</b>	Incidencia
<b>JPEG</b>	Joint Photographic Experts Group. Formato de imagen comprimida de alta resolución

<b>K</b>	Constante de equilibrio o capacidad de carga
<b>kg</b>	Kilogramos
<b>L</b>	Litros
<b>m</b>	Metros
<b>mL</b>	Mililitros
<b>NOM</b>	Norma oficial mexicana
<b>P</b>	valor de probabilidad
<b>PL</b>	Propiconazol
<b>PL+SK</b>	Combinación de propiconazol con sulfato de potasio
<b>PL+U</b>	Combinación de propiconazol con urea
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>ppp</b>	Puntos por pulgada
<b>PZ</b>	Prochloraz
<b>PZ+SK</b>	Combinación de prochloraz con sulfato de potasio
<b>PZ+U</b>	Combinación de prochloraz con urea
<b>R</b>	Coefficiente de correlación de Pearson
<b>R<sup>2</sup></b>	Coefficiente de determinación
<b>SAS<sup>®</sup></b>	Statistical Analysis Software
<b>Sevmed</b>	Severidad media

<b>SK</b>	Sulfato de potasio
<b>SNC</b>	Swiss needle cast
<b>T</b>	Tratamiento testigo
<b>™</b>	Trade Mark (Marca comercial no registrada)
<b>U</b>	Urea
<b>VCN</b>	Variable canónica asociada al contenido nutrimental foliar
<b>VCT</b>	Variable canónica asociada al tizón suizo
<b>X</b>	Tiempo evaluado o Muestreo
<b>Y</b>	Porcentaje acumulado de daño o infección en el tiempo X
<b><math>\beta_0</math></b>	Constante de integración o nivel de daño inicial
<b><math>\beta_1</math></b>	Pendiente o tasa de aumento del daño o infección

## INTRODUCCIÓN GENERAL

Los árboles de navidad son utilizados desde el siglo XVII en Europa (Alemania). La tradición con el tiempo se extendió a Inglaterra y posteriormente a EUA (Hansen y Lewis, 2003). En México la producción de árboles de navidad es una actividad que se desarrolla desde 1969, iniciándose esta actividad en el Estado de México (Cibrián, 2009). El uso del género *Pseudotsuga*, comienza a formar parte importante de las estadísticas, con 10 % de la superficie establecida de plantaciones de árboles de navidad en México (CONAFOR, 2017).

La evaluación del estado fitosanitario forestal constituye la base para la prevención y manejo de plagas y enfermedades, dado que es fundamental para realizar manejo sustentable del recurso en bosques naturales, plantaciones y áreas sujetas a conservación (Del Río y Petrovitch, 2011). El tizón suizo es una enfermedad propia del género *Pseudotsuga*, la cual es originada por el hongo *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petrak, actualmente renombrado como *Nothophaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) (Ascomycota: Mycosphaerellaceae) (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). Las acículas de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco 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, tiene un impacto negativo en el crecimiento de los árboles infectados (Cibrián *et al.* 2014; Zhao *et al.*, 2015).

En todas las áreas de distribución natural de *P. menziesii* en el centro de México, se ha encontrado al patógeno infectando el follaje de los árboles. (Cibrián *et al.*, 2007). En México se encuentra a *P. gaeumannii*, distribuyéndose en el bosque natural de la Sierra Madre Occidental, Sierra Madre Oriental, Sierra Madre del Sur y en plantaciones del centro del país (Cibrián *et al.*, 2014). En la actualidad este patógeno se ha expandido a varias regiones donde *Pseudotsuga* es un género introducido (Osorio, 2007; Temel *et al.*, 2003).

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 causado por plagas y enfermedades (Huber *et al.*, 2012). Los efectos del N, P y K en la incidencia y severidad de enfermedades son reportados más frecuentemente que los efectos de micronutrientes (Huber y Graham, 1999).

En relación con el manejo fitosanitario, existen indicios de que el ingrediente activo propiconazol es efectivo contra la enfermedad; por otra parte, el efecto del hongo *Trichoderma* sp. no es recomendable como producto preventivo (Mendoza-Campos *et al.*, 2011). Algunos autores señalan que el exceso de nitrógeno incrementa la severidad del tizón suizo (El-Hajj *et al.*, 2004). Por su parte Velázquez-Mendoza *et al.* (2017) reportan el efecto *in vitro* de Cu, Mn y Zn inhibiendo el desarrollo del hongo. La asociación entre la severidad del tizón suizo y las concentraciones nutrimentales foliares de *P. menziesii*, fue estudiada y los autores concluyen que la severidad muestra tendencias positivas con N, Na, K y S, y tendencias ligeramente negativas con P y Mn (Yung-Hsiang *et al.*, 2019a).

Con base en lo anterior, se desarrolló el presente trabajo, con los siguientes objetivos:

### **Objetivo general**

Evaluar el grado de variación de daño (incidencia y severidad) del tizón suizo (*Phaeocryptopus gaeumannii*) en una plantación comercial árboles de navidad de *Pseudotsuga menziesii*.

### **Objetivos específicos**

1. Determinar la relación e impacto del tizón suizo con la transparencia de copa y evaluar el efecto de aplicaciones de fungicidas químicos y fertilizantes inorgánicos en el nivel de variación del grado y dinámica temporal de infestación del tizón suizo en árboles de navidad de *Pseudotsuga menziesii*.
2. Evaluar la relación del estado nutrimental con el nivel de infestación del tizón suizo en árboles de navidad de *Pseudotsuga menziesii*.

## Literatura citada

- Cibrián, T. D., D. Alvarado R. y S. E. García D. 2007. Enfermedades Forestales en México/ Forest Diseases in Mexico. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR-SEMARNAT, México, Forest Service USDA, EUA, NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. México. 587 p.
- 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 (*Phaeocryptopus gaeumannii* (Rhode) Petrak) en *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca* (Beissn.) Mayr. Revista Mexicana de Ciencias Forestales 5:22 104-118.
- Cibrián, T.D. 2009. Manual para la identificación de plagas y enfermedades en plantaciones de árboles de navidad. Comisión Nacional Forestal. CONACYT. UACH. 79 p.
- 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.
- Del Río M., A.A., y I. Petrovitch. 2011. Técnicas de monitoreo e investigación fitosanitaria en bosques de clima templado. UMSNH. IIAF. Morelia, Michoacán. 88 p.
- 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 Phytologist 163:1 139-147.
- Hansen, E. M., y Lewis, K. J. 2003. Plagas y enfermedades de las coníferas. APS. Mundi-Prensa. España. 101 p.
- 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 Disease 84:7 773-778.

- Huber, D., V. Römhel, and M. Weinmann. 2012. Relationship between nutrition, plant Diseases and pests. pp. 283-298. *In*: Marschner, H. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Third edition.
- Huber, D.M. and R.D. Graham. 1999. The role of nutrition in crop resistance and tolerance to disease. pp. 205–226. *In*: Rengel, Z. Mineral nutrition of crops fundamental mechanisms and implications. Food Product Press, New York.
- Mendoza-Campos, A., D. Cibrián-Tovar y V.D. Cibrián-Llenderal. 2011. Control del tizón suizo *Phaeocryptopus gaeumannii* en plantaciones de árboles de navidad del Estado de Puebla. p.183 *In*: Memoria del XVI Simposio Nacional de Parasitología Forestal. UAEM. Cuernavaca, Morelos. CONAFOR.
- Osorio, O. M. 2007. Detección del hongo defoliador *Phaeocryptopus gaeumannii* en plantaciones de *Pseudotsuga menziesii* de Valdivia, Chile. *Bosque* 28:1 69-74.
- Stone, J. K., Capitano, B. R., and Kerrigan, J. L. 2008. The histopathology of *Phaeocryptopus gaeumannii* on Douglas-fir needles. *Mycologia* 100:3 431-444.
- Temel, F., Stone, J. K., and Johnson, G. R. 2003. First report of Swiss needle cast caused by *Phaeocryptopus gaeumannii* on Douglas-fir in Turkey. *Plant Disease* 87:12 1536-1536.
- Velázquez-Mendoza, J., O.J. Salgado-Feregrino, M.D.J. Yáñez-Morales, y M. Jiménez-Casas. 2017. *In vitro* primer reporte del efecto de nutrimentos y del silicio en el crecimiento de *Phaeocryptopus gaeumannii*, un patógeno de *Pseudotsuga menziesii*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35:1: 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 in Mycology* 87: 257–421.
- Yung-Hsiang, L., D.C. Shaw, G. Ritóková, and J. A. Hatten. 2019a. Associations between swiss needle cast severity and foliar nutrients in young-growth douglas-fir in

coastal western Oregon and southwest Washington, USA. *Forest Science* 20:201-6.

Zhao, J., Maguire, D. A., Mainwaring, D. B., and Kanaskie, A. 2015. The effect of within-stand variation in Swiss needle cast intensity on Douglas-fir stand dynamics. *Forest Ecology and Management* 347: 75-82.



## REVISIÓN DE LITERATURA

### Plantaciones de árboles de navidad

Las plantaciones forestales históricamente han contribuido a las necesidades básicas del ser humano, principalmente para productos domésticos, postes, frutas, para la industria maderera, recursos energéticos, conservación de suelo y agua, y la restauración de terrenos degradados (Winjum y Schroeder, 1997).

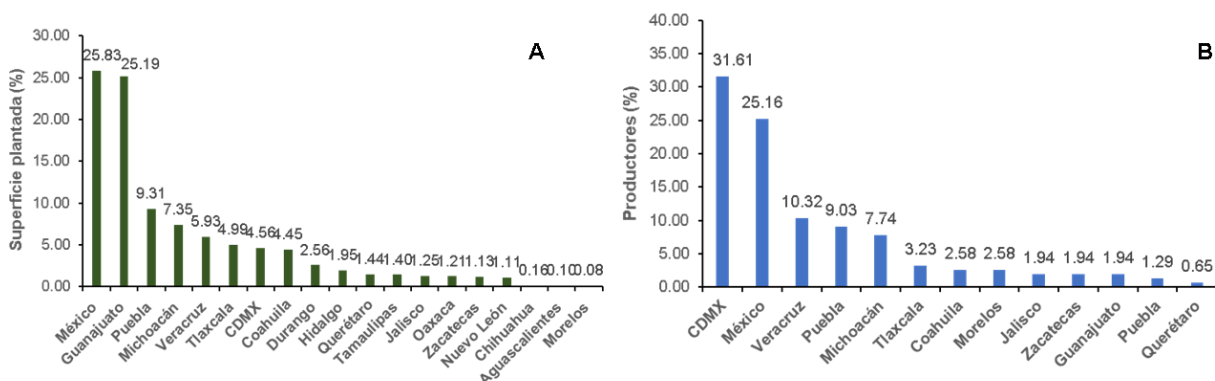
Las plantaciones forestales industriales, también llamadas comerciales, cumplen en forma precisa un objetivo de producción de bienes para la sociedad y aparte de influir positivamente en la calidad de vida del ser humano, ayuda también en muchas ocasiones a aliviar las presiones que la misma sociedad ejerce sobre los bosques naturales (Musálem, 2006). El objetivo de una plantación forestal generalmente es obtener o proteger un producto forestal o comercial, como madera, resina, árbol de navidad, celulosa, producir o proteger un servicio (i.e. captación de agua, control de erosión, mejoramiento de la belleza escénica, o la arquitectura del paisaje, la captura de CO<sub>2</sub>) (Musálem, 2006; Capó, 2015).

En México, la producción de árboles de navidad es una actividad que se desarrolla desde 1969; al principio, empresarios del Estado de México establecieron plantaciones con *Pinus radiata* D. Don (Cibrián, 2009). De acuerdo con CONAFOR (2017) los estados de México y Guanajuato tienen el 51.02 % de la superficie plantada de árboles de navidad, mientras que con respecto al número de productores y comercializadores, CDMX y México, tienen el 56.77 %. Para el año 2016 se tenían 11,335 ha ocupadas por árboles de navidad en 86 municipios en 19 estados de la república (Figura 1).

El establecimiento y administración de plantaciones de árboles de navidad comprende las siguientes etapas: Producción de planta, establecimiento de plantaciones (subsulado profundo, nivelado del terreno, rastreo con discos, trazado de hileras de plantación, trasplante), manejo de plagas y enfermedades, fertilización, riego, manejo de malezas, podas para formación y finalmente la planificación y comercialización de los árboles a partir de una altura de 1.60 m (Domínguez, 2015).

La densidad de plantación es de 2,200 a 4,000 árboles ha<sup>-1</sup> y su ciclo de producción varía entre cinco y ocho años (CONAFOR, 2017).

El mantenimiento de las plantaciones comerciales es la etapa más importante, parte donde es vital llevar a cabo un adecuado manejo fitosanitario, ya que las plagas y enfermedades, pueden ser un factor limitante en la producción de árboles de navidad y por ende mermar la comercialización y ganancias (Monárrez, 2000).



**Figura 1.** Producción de árboles de navidad en el período (2002-2017): A) Superficie plantada y B) número de productores.

Las especies típicas que se cultivan en México como árboles de navidad son *Pinus ayacahuite* Ehrenb. ex Schltl. (principal especie con 57%), *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, *Pinus cembroides* Zucc., *Pinus gregii* Engelm. ex Parl., *Abies religiosa* (Kunth) Schltl. & Cham., *Picea* sp. Link, *Cupressus lindleyii* Klotzsch ex Endl., *Chamaecyparis* sp. Spach y *Thuja* sp. L. (CONAFOR, 2017).

## ***Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco**

La diversidad de coníferas representa más de la mitad de los pinos que existen en el mundo, además de otros géneros como *Abies*, *Juniperus* y *Cupressus* (Domínguez, 2015). De las 94 especies de coníferas mexicanas, 43 son endémicas del país, de éstas 18 tienen un rango de distribución limitado a tres o menos estados (Gernandt y Pérez-de la Rosa, 2014).

Como parte de las coníferas presentes en el paisaje mexicano, destaca *P. menziesii*; esta especie alcanza una distribución natural geográficamente amplia, ya que sus poblaciones se localizan desde Sonora hasta Oaxaca, donde se desarrolla en condiciones ambientales específicas. Sin embargo, los rodales puros o mezclados de esta conífera se encuentran restringidos a superficies limitadas y en condiciones de topografía accidentada. Debido a esta condición se considera una especie amenazada y sujeta a protección especial por la legislación ambiental mexicana (Domínguez, 2015).

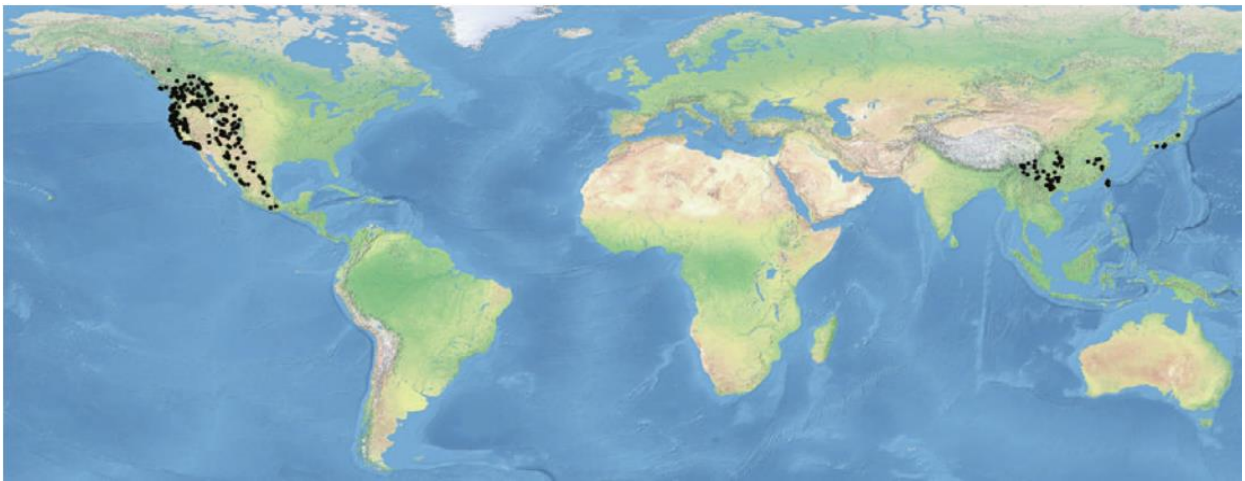
A pesar de que las poblaciones mexicanas representan la continuidad de aquellas ubicadas en Canadá y EUA, el uso de tales masas es completamente diferente; mientras que en esas naciones representa uno de los pilares de la actividad forestal, en México su aprovechamiento comercial está prohibido por las condiciones que prevalecen en esos rodales (Domínguez, 2015).

El abeto de Douglas o Douglas-fir (*P. menziesii*) es una conífera que tiene una altura de 60-80 m y un diámetro normal que puede llegar a medir 2 m (Da Ronch *et al.*, 2016). La madera de *P. menziesii* procedente de Oregón (EUA) y Canadá, es reconocida como una de las más importantes del mundo, valorada desde el continente americano hasta Europa, teniendo múltiples aplicaciones en carpintería, ebanistería, para celulósicos y como ornamental o en plantaciones de árboles de navidad (Domínguez, 1994).

El uso del género *Pseudotsuga*, comienza a formar parte importante de las estadísticas, con 10 % de la superficie establecida de plantaciones de árboles de navidad en México en el período 2013-2017 (CONAFOR, 2017).

## Distribución

El género *Pseudotsuga* se distribuye en ambos lados de la cuenca norte del océano Pacífico: este de Asia y oeste de Norteamérica (Figura 2). Los representantes asiáticos de este género comprenden a las siguientes especies: *P. japonica* (Shirasawa) Beissner, *P. gaussenii* Flous, *P. sinensis* Dode, *P. sinensis* var. *Wilsoniana* (Hayata) L. K. Fu y Nan li, *P. forrestii* Craib y *P. brevifolia* W.C. Cheng y L. K. Fu. (Farjon y Filer, 2013; Lavender y Hermann, 2014).



**Figura 2.** Distribución natural del género *Pseudotsuga* (Tomado de Farjon y Filer, 2013).

*P. menziesii*, Douglas-fir o pinabete se distribuye de manera natural en el suroeste de Canadá, oeste de EUA y norte, centro - sur de México (Domínguez, 2015); en este último se distribuye en la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental, en pequeños rodales (Martínez, 1963).

En Norteamérica se encuentran la variedad del interior: *P. menziesii* var. *glauca* (Beissn.) Franco, la variedad de la costa: *P. menziesii* var. *menziesii* (Mayr) Franco y el Douglas-fir de cono grande: *P. macrocarpa* (Vasey) Mayr, este último restringido al sureste de California en EUA (Lavender y Hermann, 2014).

La superficie ocupada por *P. menziesii* en México (>25, 000 ha) es bastante menor que la cubre en EUA (14.3 millones de ha) y en Canadá (4.5 millones de ha); en México, los rodales con mayor extensión se localizan en los estados de Chihuahua y Durango; la distribución la completan los estados de Sonora, Zacatecas, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Querétaro, Veracruz, Puebla, Tlaxcala, Oaxaca y Guanajuato en altitudes de 2000 a 3200 msnm (Rzedowski, 2006; Domínguez, 2015; Villagómez y Bello, 2015).

### **Descripción botánica**

Es un árbol monoico de porte grande siempre verde, con altura de entre 12-40 m y el diámetro normal se encuentra entre los 35 y 70 cm, en condiciones naturales. Su corteza es de color grisáceo, delgada y con ámpulas de resina en árboles jóvenes. Los conos colgantes, leñosos, oblongo-ovoides, solitarios, caedizos, posados en pedúnculos cortos, miden de 3-8 cm de largo y de 3-4 cm de ancho. Las semillas en el ápice son estériles con menos de 6 mm de largo, redondeadas y con un ala terminal de 10-15 mm de longitud incluyendo la semilla (Martínez, 1963; Preston, 1976).

### **Interacción Ambiente-planta-patógeno**

Los tres factores determinantes de enfermedades bióticas o parasitarias de las plantas son: el ambiente, el patógeno y el hospedante. La combinación en el tiempo y en el espacio de estos tres elementos determina la incidencia y severidad de la enfermedad. El hospedante es la principal fuente nutricional de los patógenos. Por tanto, los parásitos son nutricionalmente dependientes del hospedante y sus poblaciones se desarrollan en función de la disponibilidad de alimento y del ambiente que actúa como un catalizador de los procesos biológicos de reproducción (Carmona y Sautua, 2011).

El triángulo de la enfermedad es uno de los paradigmas en la fitopatología, es decir, la existencia de una enfermedad causada por un agente biótico requiere absolutamente la interacción de un hospedero susceptible, un patógeno virulento y un entorno favorable para el desarrollo de la enfermedad (Munévar, 2004).

## **Mecanismos de defensa al ataque de patógenos**

De acuerdo con Charles-Edwards (1982) existen al menos cinco medios por cuales el desarrollo de una planta puede ser afectada o limitada por factores bióticos y abióticos: a) reducción de la eficiencia del uso de la energía luminosa, b) reducción de la cantidad de energía luminosa interceptada por la planta, c) alteraciones que afectan la proporción de nueva materia seca asignada a las diferentes partes de la planta, d) alteración de la tasa de pérdida de materia seca y e) efecto en la duración de la producción de órganos de la planta.

Los mecanismos de defensa de los árboles dependen de factores genéticos y ambientales e incluso de complejas interacciones de los componentes del patosistema (Sampedro, 2013; Robinson, 1987; Robinson, 2007).

Los efectos de los patógenos en la fisiología de las plantas hospederas incluyen: impactos en la fotosíntesis, translocación del agua y nutrimentos, respiración, permeabilidad de las membranas celulares y la transcripción y traducción celular (i.e. expresión de genes) (Agrios, 2005).

En respuesta, los vegetales se defienden de los patógenos ejerciendo mecanismos físicos (i.e. estructural) y químicos (i.e. bioquímica o metabólica) adquiridos durante el proceso evolutivo para prevenir el acceso del patógeno (Agrios, 2005; Cruz *et al.*, 2006). En ambos casos puede haber una defensa preexistente y una defensa no preexistente (Agrios, 2005).

Las plantas pueden presentar una defensa pasiva o preformada estructuralmente, si está determinada por propiedades ya existentes antes del intento de infección del patógeno, como: ceras, tricomas, cutícula, la pared celular de las células epidérmica, los estomas y las células esclerenquimatosas (Agrios, 2005).

También consta de barreras bioquímicas que incluyen compuestos preformados (i.e. compuestos fenólicos, saponinas, lecitinas, taninos, inhibidores de enzimas, enzimas hidrolíticas) que son liberados de la célula vegetal durante los procesos de invasión por el patógeno (Cruz *et al.*, 2006; Agrios, 2005).

La planta también puede producir una defensa activa o inducida, cuando en ocasiones el patógeno es capaz de superar las estructuras de defensa preexistentes y penetrar al hospedante; formando una o más estructuras que traten de detener su avance al interior de la planta, tales como: a) estructuras histológicas que pueden consistir en: formación de capas de corcho, formación de capas de abscisión, formación de tilosas y depósitos de sustancias gomosas (Agrios, 2005; Cruz *et al.*, 2006), b) estructuras celulares, como pueden ser: cambios morfológicos en la pared celular o la envainación de la hifa penetrante (Agrios, 2005).

En el caso de la defensa química activa están: a) reacción de defensa citoplasmática (Altieri y Muñoz, 1987; Herrera *et al.*, 1987), b) reacción de hipersensibilidad (i.e. mecanismo que provoca una muerte rápida de las células infectadas) (Altieri y Muñoz, 1987; Agrios, 2005), c) fenoles fungo-tóxicos, d) la formación de fitoalexinas (i.e. polifenoles, cumarinas, flavonoides y antocianinas), e) la defensa mediante detoxificación de toxinas patogénicas (i.e. vías de defensa como ruta del ácido acetil-salicílico, etileno, óxido nitroso, peróxido y ácido jasmónico) y compuestos no hormonales (i.e. oligosacáridos, sistemina) (Agrios, 2005; Cruz *et al.*, 2006).

### **Los nutrimentos y su efecto contra enfermedades**

El papel más conocido de los nutrimentos es aquel relacionado con sus funciones en el metabolismo, a través del cual afectan el crecimiento y rendimiento de las plantas. Sin embargo, la nutrición mineral también tiene efectos secundarios sobre la morfología, la anatomía de la planta y sobre su composición química (Marschner, 1995).

En la actualidad los nutrimentos identificados como indispensables para las plantas superiores son: C, H, O, N, P, K, Mg, Ca, S, Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo, Ni y Cl; todos ellos tienen al menos una función esencial en algún proceso fisiológico como activador de una enzima o como constituyente de algún metabolito, estas funciones pueden ser clasificadas en tres grandes grupos: 1. Estructural, 2. Constituyentes de enzimas. 3. Transporte y regulación osmótica (Alcántar *et al.*, 2013).

El efecto específico que se produzca depende del nutrimento, su disponibilidad o concentración, la naturaleza del patógeno y el genotipo vegetal (Marschner, 1995). Así como la tasa de desarrollo epidémico de una enfermedad puede estar determinada por la susceptibilidad inherente de la planta a la infección, también puede verse influida por la variación en la susceptibilidad consecuente con el estado de nutrimental del hospedero (Cooke *et al.*, 2006). El aporte de nutrimentos puede cambiar la resistencia/tolerancia de las plantas a patógenos y plagas al alterar el crecimiento y la composición del tejido (i.e. la concentración compuestos de defensa), pero claro, dependiendo del patógeno / plaga y nutrimento, el suministro nutrimental para un crecimiento óptimo de la planta puede aumentar o disminuir la incidencia/severidad de la enfermedad, con diferencias en la respuesta entre parásitos facultativos y obligados (Marschner, 2012).

Las pérdidas de producción causadas por las enfermedades de los cultivos son considerables, y la nutrición juega un papel importante en la determinación de la resistencia o susceptibilidad de las plantas a las enfermedades, pero evidentemente la corrección de una deficiencia generalmente aumenta la tolerancia y/o la resistencia de las plantas a las enfermedades, pero ningún nutrimento controla todas las enfermedades o favorece el control de enfermedades en todos los grupos de plantas (Fageria *et al.*, 2011).

### **Tolerancia y resistencia a fitopatógenos**

En fitopatología, los conceptos relacionados a la capacidad de soportar o superar una infección o nivel de daño de un agente patógeno son básicamente tres: la resistencia, tolerancia y el escape (Agrios, 2005); en general, la resistencia a fitopatógenos que se ligan monogenéticamente a su hospedante implican un manejo más sencillo, al contrario de lo que ocurre con los insectos y ácaros que rara vez lo hacen (Romero y Villanueva, 2000).

La tolerancia es definida como la capacidad que tiene una planta para soportar los efectos de una enfermedad sin que muera o sufra daños serios; por otra parte, la resistencia es la capacidad que tiene un organismo para superar, totalmente o hasta cierto grado, el efecto de un patógeno u otro factor perjudicial. Finalmente, el escape se



asocia a que las plantas genéticamente susceptibles no sean infectadas, ya que los tres factores necesarios para que se desarrolle la enfermedad (hospedante susceptible, patógeno virulento y ambiente favorable) no coincidan o interactúen en el momento oportuno (Russell, 1978; Agrios, 2005). De acuerdo con Johnson (2002) la tolerancia al tizón suizo es el crecimiento continuo en presencia de una alta densidad del patógeno y asocia el color (i.e. clorosis) de las acículas y la transparencia de la copa como buenos indicadores para evaluarla.

### **Problemática sanitaria**

También el hecho de tener a los árboles en alta densidad, de 2500 a 4000 árboles por hectárea, y siempre en el mismo rango de edades, facilita condiciones para que los patógenos o insectos fitófagos se desarrollen. Por esta razón en las plantaciones de árboles de navidad se hace necesario un manejo fitosanitario permanente (Cibrián, 2009).

En general, para las especies de árboles de navidad utilizadas, existen varias enfermedades foliares donde destacan en México las siguientes de acuerdo con Cibrián (2009): en *Pinus* spp, tizón por *Dothistroma septospora*, caída de acículas de pino por *Lophodermium* sp., caída de acículas por *Lophodermella maureri*; en *Cupressus* spp, tizón por *Phoma* sp. en ciprés; en *Abies religiosa*, roya de la escoba del oyamel (*Melampsorella caryophyllacearum*); y finalmente en *Pseudotsuga menziesii*, tizón suizo (*Phaeocryptopus gaeumannii*) y el moho gris (*Botrytis cinerea*).

Stone *et al.* (2008) reportan en EUA a *Stomiopeltis* sp., *Rasutoria pseudotsugae* y *Rhabdocline* sp. como otros tizones comunes de *P. menziesii*.

En el siguiente listado se mencionan a las plagas y enfermedades reportadas para México (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Plagas y enfermedades reportadas para *P. menziesii* en México.

<b>Organismo</b>	<b>Hábitos y tipo de daños</b>	<b>Autor</b>
<b>Plagas</b>		
<i>Adelges cooleyi</i>	Brotes terminales, savia, ramillas y troncos	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Apolychrosis ferruginus</i>	Carpóforo y espermatóforo	Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Apolycrosis synchysis</i>	Carpóforo y espermatóforo	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Barbara sp.</i>	Carpóforo y espermatóforo	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Chirothrips falsus</i>	Carpóforo y espermatóforo	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Choristoneura sp.</i>	Brotes y carpóforo	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Contarinia sp.</i>	Carpóforo y espermatóforo	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Dendroctonus pseudotsugae</i>	Descortezador	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Dioryctria pinicolella</i>	Carpóforo y espermatóforo	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Frankliniella adadusta</i>	Carpóforo y espermatóforo	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Frankliniella chamulae</i>	Carpóforo y espermatóforo	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Frankliniella fallaciosa</i>	Carpóforo y espermatóforo	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Gnathotrichus sulcatus</i>	Descortezador	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Heterotermes aureus</i>	Madera en uso	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)

<i>Incisitermes minor</i>	Madera seca	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Lophocampa alternata</i>	Defoliador, brotes, ramillas y troncos	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Megastigmus spermatrophus</i>	Carpóforo y espermatóforo	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Nuculaspis californica</i>	Defoliador	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Pityophthorus orarius</i>	Brotes y ramillas	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Pseudohylesinus nebulosus</i>	Descortezador	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Reticulitermes hesperus</i>	Madera en uso	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Scolytus aztecus</i>	Descortezador	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Scolytus hermosus</i>	Descortezador	Cibrián <i>et al.</i> (1995)
<i>Scolytus reflexus</i>	Descortezador	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (1995)

#### Enfermedades

<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Tumores en los fustes	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Alternaria</i> sp.	Tizón	Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Arceuthobium douglasii</i>	Planta parásita, escobas de bruja	Hawksworth y Wiens (1972); Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (2007); Hansen y Lewis (2003)
<i>Armillaria mellea</i>	Pudrición de raíz	Méndez y Campos (1991); Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Armillaria ostoyae</i>	Pudrición de raíz	Hansen y Lewis (2003); Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Botrytis cinerea</i>	Pudrición de brotes, moho gris	Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Dermea pseudotsugae</i>	Cancro	Hansen y Lewis (2003)

<i>Dothistroma septosporum</i>	Tizón	Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Fomitopsis subroseus</i>	Pudrición de madera	Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Fomitopsis cajanderi</i>	Pudrición café de madera	Méndez y Campos (1991); Hansen y Lewis (2003); Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Fusarium oxysporum</i>	Pudrición de raíz	Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Heterobasidion annosum</i>	Pudrición de raíz	Hansen y Lewis (2003); Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Leptographium terebrantis</i> var. <i>pseudotsugae</i>	Manchador de madera	Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Leptographium wagneri</i>	Raíces	Hansen y Lewis (2003)
<i>Melampsora occidentalis</i>	Roya	Hansen y Lewis (2003)
<i>Phaeocryptopus gaeumannii</i>	Tizón	Hansen y Lewis (2003); Cibrián <i>et al.</i> (2007); Cibrián <i>et al.</i> (2014);
<i>Phaeolus schweinitzii</i>	Pudrición de raíz	Méndez y Campos (1991); Hansen y Lewis (2003); Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Phellinus pini</i>	Pudrición de madera	Hansen y Lewis (2003); Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Phellinus weirii</i>	Pudrición de madera	Hansen y Lewis (2003)
<i>Phomopsis lokoyae</i>	Cancro	Hansen y Lewis (2003)
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	Pudrición de raíz	Cibrián <i>et al.</i> (2007)
<i>Resinicium bicolor</i>	Pudrición de tronco	Hansen y Lewis (2003)
<i>Rhabdocline</i> spp.	Tizón	Hansen y Lewis (2003)
<i>Rhizina undulata</i>	Raíces	Hansen y Lewis (2003)
<i>Sirococcus conigenus</i>	Cancro	Hansen y Lewis (2003)
<i>Sparassis crispa</i>	Pudrición de raíz	Hansen y Lewis (2003)
<i>Stereum sanguinolentum</i>	Pudrición de tronco	Hansen y Lewis (2003)

### **Tizón suizo (*Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petrak)**

El tizón suizo o SNC es una enfermedad propia del Douglas-fir, la cual es originada por el hongo *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petrak. Este hongo que parasita las acículas del género *Pseudotsuga*, tiene un micelio intracelular y en los estomas presenta un estroma pardo, que tiene un pequeño ascoma globular aplanado (i.e. pseudotecio) (Gäumann, 1964).

En clasificaciones pasadas el género *Phaeocryptopus* fue ubicado en la familia Venturiaceae y como anamorfo a *Rhizosphaera*, aunque existe cierta controversia (Winton *et al.*, 2007; Ainsworth, 2008). Actualmente este hongo es nombrado como *Nothophaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) (Ascomycota: Mycosphaerellaceae) (Videira *et al.*, 2017). Por la morfología y sintomatología, *P. gaeumannii* puede ser confundido con el género *Rhabdocline* (Myren, 1984).

La especie hace referencia a Ernst Albert Gäumann, botánico y micólogo suizo, quien fue el primero en reportarlo en Europa (suiza) en plantaciones maderables en 1925, con el tiempo se dispersó hacia Alemania, Dinamarca, Inglaterra e Irlanda (Gäumann, 1930; Boyce, 1940). Skilling (1981) reportó la enfermedad por primera vez en árboles de navidad, demeritando la calidad de estos.

En EUA no se había reportado la enfermedad hasta 1939, pero al revisar muestras de herbarios de Douglas-fir colectadas en California en 1916, encontraron que la ocurrencia del hongo era común en el oeste de EUA y se llegó a la conclusión que el patógeno es endémico de la zona de distribución natural de Douglas-fir (Morton y Patton, 1970).

La rápida propagación del tizón suizo tuvo grandes epidemias a fines de los años treinta; como resultado, la plantación de Douglas-fir fue desalentada o totalmente prohibida; el conocimiento cada vez mayor de la biología del hongo mostró las condiciones bajo las cuales se podía cultivar Douglas-fir sin riesgos excesivos, reanudándose en la década de 1950 (Lavender y Hermann, 2014).

Se considera un parásito obligado, biotrófico y un parásito de viejo encuentro, dado que sólo vive si puede extraer sus nutrimentos del tejido vivo de su hospedero y ha mantenido contacto continuo con éste (Agrios, 2005; El-Hajj, 2004). Los árboles tienen patosistemas endémicos y normalmente no tienen resistencia vertical, pero pueden tener la resistencia horizontal o cuantitativa (teoría poligénica); además son sistemas epidémicos continuos que están asociados a la autoinfección. Los patosistemas continuos que tienen resistencia horizontal, tienen frecuencias altas de parasitismo (Robinson, 1987).

En términos de la relación gene por gene, se considera una infección acoplante dado que cuando un gene o genes de parasitismo del parásito se acopla (n) al gene o genes de resistencia del hospedante; es entonces cuando falla la resistencia vertical o cualitativa (teoría monogénica), ésta deja de operar, y la infección triunfa (Robinson, 2007).

## **Distribución**

*P. gaeumannii* fue reportado por primera vez en Suiza en el año de 1925, posteriormente en Alemania, Dinamarca, Inglaterra e Irlanda (Boyce, 1940). Posteriormente se conoció que el hongo es nativo de Norteamérica y que fue introducido accidentalmente a Europa (Stone *et al.*, 2008).

En México se localizan cepas locales de *P. gaeumannii* como colonizadoras de *P. menziesii* var. *glauca*, distribuyéndose en el bosque natural de la Sierra Madre Occidental, la Sierra Madre Oriental y en la Sierra Madre del Sur, así como en diversas plantaciones de árboles de navidad del centro del país (Cibrián *et al.*, 2014). En la actualidad este patógeno se ha expandido hacia varias regiones donde *Pseudotsuga* es un género introducido; países del hemisferio sur como Argentina, Chile, Nueva Zelanda, así como en Asia occidental (Turquía) y varios países de Europa, por lo que constituye un problema fitosanitario en el cultivo de árboles de navidad (Osorio, 2007; Temel *et al.*, 2003).

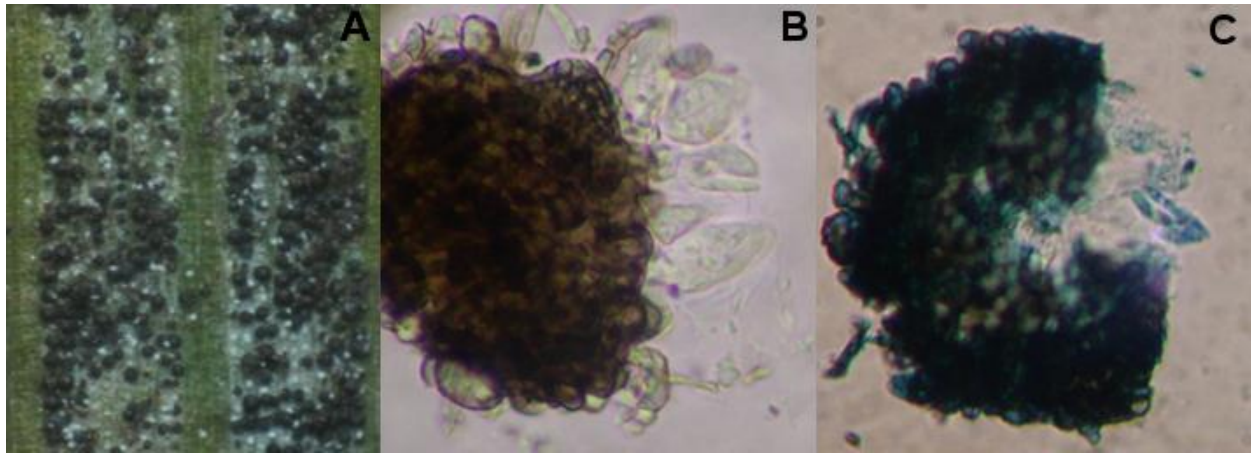
Potencialmente se puede considerar una enfermedad relevante en varios países del hemisferio norte y en menor cantidad en el hemisferio sur, donde se encuentra distribuido el Douglas-fir como una especie introducida (Hermann, 2014). Cibrián *et al.* (2007) reportan la presencia de la especie en rodales naturales de *P. menziesii* en Chihuahua, Durango, Coahuila, Nuevo León, Querétaro, Puebla, Tlaxcala, Veracruz, Ciudad de México y Estado de México.

Los principales requerimientos de *P. gaeumannii* son precipitaciones mensuales entre 250-350 mm, un rango de temperatura ambiental de mayo a agosto con una media de 13-17 °C y humedades relativas mayores al 90% (Cibrián *et al.*, 2014). Existen registros que las altitudes de bajo de los 200 msnm presentan mayor infección (Kastner *et al.*, 2001; Manter *et al.*, 2005).

## **Sintomatología**

Los síntomas característicos de los árboles dañados son las acículas cloróticas, pobre retención de acículas y crecimiento disminuido, las plantaciones dañadas severamente pueden perder todo el follaje en años anteriores, y el principal signo son los pseudotecios (i.e. estructura fúngica uniloculada o multiloculada, con una cavidad semejante a un peritecio, pero sin una pared propia, distinguiéndose solamente la parte fértil o himenio, que es donde se desarrollan las ascas y ascosporas) en el envés de las acículas (Kimberley, 2011; Leyva y Tlapal, 2013). Los principales síntomas incluyen follaje clorótico y abscisión prematura de acículas infectadas que dan como resultado copas de árboles ralas (Hansen *et al.* 2000).

Este organismo desarrolla pseudotecios oscuros, globosos y lisos de 50-80 µm de diámetro, en su interior contiene numerosas ascas ovoides a piriformes, bitunicadas de 30-40 x 8-15 µm, las ascas contienen en su interior ocho ascosporas fusiformes hialinas a un amarillo pálido de 10-15 x 3.5-5 µm con un septo central (Dennis, 1978; Funk, 1985) (Figura 3).



**Figura 3.** *Phaeocryptopus gaeumannii*: A) Pseudotecios bloqueando las estomas en la acícula, B) Pseudotecio maduro liberando ascas hialinas y C) Pseudotecio mostrando las ascosporas.

### **Biología del tizón suizo**

Varios fitopatógenos entran en el follaje a través de los estomas (i.e. bacterias, midius, royas y varios hongos imperfectos) como una alternativa de la penetración directa de células y tejidos epidérmicos (Willmer y Fricker, 1996) como *Dothistroma pini* en acículas de *P. radiata* (Gadgil, 1967; Ivory, 1972).

La infección y colonización de las acículas de *P. menziesii* comienza con la germinación de las ascosporas, las cuales se disemina con ayuda del viento y la lluvia, infectando al nuevo follaje que apenas se ha formado, esto sucede durante la primavera e inicios del verano, coincidiendo con la brotación y alargamiento de los brotes (Temel *et al.*, 2004; Stone *et al.*, 2008).

La germinación de las ascosporas de *P. gaeumannii* tiene mayor frecuencia en acículas nuevas y estas producen apresorios supraestomáticos; la colonización dentro de las acículas es exclusivamente intercelular, tanto en la capa de parénquima empalizada como en el mesófilo esponjoso, y aumenta continuamente, los pseudotecios son



formados en cámaras peristomatales y los estomas que se mantienen intactos son invadidos por hifas epifíticas presentando anastomosis (Stone *et al.*, 2008).

La infección permanece latente y asintomática por varios meses. Los primeros pseudotecios se forman en el cambium y emergen de las acículas desde septiembre-octubre hasta los primeros meses del año siguiente, aproximadamente cuatro meses después de iniciada la infección (diciembre-enero), siendo más evidentes después de seis a nueve meses (mayo-junio); las acículas enfermas pueden producir pseudotecios en una, dos o tres estaciones antes de caer, el número de estructuras incrementa anualmente. El estado asexual del hongo se desconoce (Boyce, 1940; Hood y Kershaw, 1975; Michaels y Chastagner, 1984; Hansen *et al.*, 2000; Stone *et al.*, 2008) (Figura 4).

Los pseudotecios son producidos sucesivamente y su maduración no es simultánea; durante todo el año, las acículas son infectadas teniendo una población de pseudotecios en varias etapas de maduración (Chastagner y Byther, 1983).

Las ascas maduran durante los meses de abril a junio, en el oeste de Oregón y Washington, las ascosporas se producen e infectan nuevas acículas desde mediados de abril a septiembre, pero con mayor intensidad en junio a julio (Chastagner y Byther, 1983; Michaels y Chastagner, 1984); Stone *et al.* (2008), Cruz (2007) y Hernández (2009) reportan similarmente el mismo período de liberación de ascosporas para las plantaciones en México. Los pseudotecios son visibles como esferas negras diminutas empastadas con las líneas de las estomas (Boyce, 1940; Stone y Carroll, 1985).



**Figura 4.** Ciclo de infección de *Phaeocryptopus gaeumannii* (Tomado de Stone *et al.*, 2010).

Manter *et al.* (2000) descubrieron que el intercambio gaseoso en las acículas de Douglas-fir infectadas por *P. gaeumannii*, durante su desarrollo como endofítico, se comporta de manera normal, pero se ve afectado cuando ocurre la emergencia de los pseudotecios de los estomas de las acículas, dado que una vez que los pseudotecios han emergido, la asimilación de CO<sub>2</sub> es inversamente proporcional a la cantidad de pseudotecios.

De acuerdo con Willmer y Fricker (1996), cuando los patógenos infectan las plantas, los estomas pueden verse afectados de diversas formas que pueden reflejarse en diferentes patrones de transpiración y fotosíntesis.

Cuando la respiración supera la asimilación al menos 25% de los estomas están ocluidos (Manter *et al.*, 2003). El equilibrio de carbono es crucial para la retención del follaje, por lo que en este punto se inicia la abscisión de las acículas (Cannell y Morgan, 1990). La reducción de la fotosíntesis como un daño foto-oxidativo también puede contribuir a la pérdida prematura de acículas en el follaje expuesto al sol (Manter, 2002).

Manter *et al.* (2000) discuten que al verse afectada la conductancia estomática por los pseudotecios de *P. gaeumannii*, principalmente se ve afectado el suministro de CO<sub>2</sub> y la activación de la rubisco. Los efectos directos pueden deberse a sustancias producidas por el hospedero (i.e. fitoalexinas), o sustancias producidas por el patógeno (i.e. toxinas y enzimas) que afectan los estomas de manera parcial (i.e. provocando una extensión artificial de las células protectoras) (Willmer y Fricker, 1996).

En algunos casos, los estomas infectados por hongos eventualmente no se abren ampliamente en la luz, lo que no solo reducirá la transpiración sino también la fotosíntesis y el crecimiento de la planta, pero en otros casos, los estomas permanecen completamente abiertos incluso en la oscuridad y habrá una pérdida incontrolable de agua (Willmer y Fricker, 1996).

## **Manejo**

Se recomiendan dos aplicaciones al año de productos a base del ingrediente activo clorotalonil, en plantaciones de *P. menziesii*, la primera en el mes de mayo y la segunda en agosto, mediante aspersión aérea con dosis de 6.4 L ha<sup>-1</sup> (Johnson *et al.*, 2003).

Las acciones de prevención y control sólo se recomiendan para plantaciones de árboles de navidad. Como medida de protección se recomienda aplicar clorotalonil o azufre elemental: se sugiere iniciar las aspersiones cuando los brotes de crecimiento tienen menos de 6 cm de longitud, a finales de abril y continuarlas hasta finales de junio; las aplicaciones deben ir dirigidas hacia brotes nuevos y follaje en desarrollo (Cibrián *et al.*, 2007).

En un estudio realizado en plantaciones de árboles de navidad de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco var. glauca (Beissn.) Franco, ubicadas en el municipio de Ixtacamaxtitlán, Puebla, se evaluaron nuevas alternativas para el control del tizón suizo donde el producto químico propiconazol, resultó ser el más efectivo, incluso fue mejor que el clorotalonil; además se evaluó al hongo antagonista *Trichoderma* sp. donde este controló parcialmente al hongo patógeno y se concluyó en no recomendarlo como producto de prevención de infecciones (Mendoza-Campos *et al.*, 2011).

En un estudio realizado por Cruz (2007) en Valle de Bravo, Estado de México, evaluó la presencia de pseudotecios en el envés de las acículas de *Pseudotsuga menziesii*, asociándolo a la defoliación de los árboles de navidad. Determinó que la liberación de las ascosporas se presenta desde abril, encontrándose una máxima liberación a mediados de junio y finalizando hasta septiembre cuando comenzaron a notarse los primeros síntomas en las acículas; la maduración de los pseudotecios empezó desde febrero del siguiente año. Las aplicaciones de clorotalonil disminuyeron el impacto de la enfermedad.

Hernández (2009) determinó el período de liberación de ascosporas para los estados de México, Puebla y Oaxaca; utilizó trampas para esporas con vaselina; concluyó que la máxima liberación de ascosporas de *P. gaeumannii* se da en los meses de mayo a junio; sin embargo, el período de inicio y término de la liberación varía con la temperatura y la humedad.

Andrade (2013) en Huacal Viejo, Agua Bendita, Estado de México, evaluó la incidencia y severidad del tizón suizo y comparó la histopatología de las acículas; también realizó evaluación de productos fungicidas, donde LUCAFLOW® (azufre) fue el producto más eficiente en detener el avance del tizón suizo en los nuevos brotes. AMISTAR® (Azoxistrobina), TILT 250® (propiconazol), SAFE T SIDE® (aceite parafínico), PROMYL 50 % PH® (benomilo) y CUPRAVIT® (oxicloruro de cobre) solo impidieron la manifestación de los síntomas de la enfermedad en el follaje del siguiente año (brotes nuevos) más no evitaron la caída del follaje en el árbol.

En la observación microscópica de los cortes de tejidos dañados por el tizón, se encontró que los pseudotecios bloquean los estomas. Con la aplicación de químicos se reduce el impacto de la enfermedad, pero no se erradica; sin embargo, es necesario seguir buscando alternativas de manejo.

Por su parte Velázquez-Mendoza *et al.* (2017) reportan el efecto *in vitro* de nutrimentos y silicio en el crecimiento del tizón suizo con cepas de Valle de Bravo, Estado de México, donde los macronutrimentos favorecieron el crecimiento de *P. gaeumannii*, en contraste los micronutrimentos Cu, Mn y Zn inhibieron el desarrollo del hongo y en general, el Si inhibió el crecimiento del hongo.

## Literatura citada

- Agrios, G. N. 2005. Introduction to plant pathology. Elsevier Academic Press Publication. Fifth edition. 922 p.
- Ainsworth, G. C. 2008. Ainsworth y Bisby's dictionary of the fungi. Ten Edition. Cabi. 771 p.
- Alcántar G., G., L. I. Trejo-Téllez, L. Fernández P., y M.N. Rodríguez Mendoza. 2013. Elementos esenciales. pp. 08-43. *In*: Alcántar, G. G., y L. I. Trejo-Téllez. Nutrición de cultivos. BBA.
- Altieri, M. A. y M. Muñoz. 1987. Mecanismos de resistencia de las plantas fitopatógenas. pp. 29-39. *In*: Fitopatología aplicada, epidemiología y manejo de enfermedades. Berkeley: Consorcio Latinoamericano sobre Agroecología y Desarrollo (ELADES). Universidad de California.
- Andrade V., E. 2013. Manejo y evaluación de la presencia del tizón suizo (*Phaeocryptopus gaeumannii*) en las plantaciones de Agros Navidad en Valle de Bravo, Estado de México. Tesis de Licenciatura. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 67 p.
- Boyce, J. S. 1940. A needle cast of Douglas-fir associated with *Adelopus gaeumannii*. *Phytopathology* 30:8 649-659.
- Cannell, M. G. R. and J. Morgan. 1990. Theoretical study of variables affecting the export of assimilates from branches of *Picea*. *Tree Physiology* 6:3 257-266.
- Capó A., M.A. 2015. Metodología de la reforestación. UAAAN. Saltillo, Coah., México. 168 p.
- Carmona, M. y F. Sautua. 2011. Impacto de la nutrición y de fosfitos en el manejo de enfermedades en cultivos extensivos de la región pampeana. Actas Simposio Fertilizar 2011. Ed. IPNI (International Plant Nutrition Institute) y Fertilizar. 18 y 19 de mayo, Rosario, Argentina. 73- 82 pp.

- Charles-Edwards, D. A. 1982. Physiological determinants of crop growth (Vol. 1). London: Academic Press. 161 p.
- Chastagner, G. A. and R. Byther. 1983. Infection period of *Phaeocryptopus gaeumannii* on Douglas-fir needles in western Washington. Plant Disease 67: 811-813.
- Cibrián T., D. 2009. Manual para la identificación de plagas y enfermedades en plantaciones de árboles de navidad. Comisión Nacional Forestal. CONACYT. UACH. 79 p.
- Cibrián T., D., D. Alvarado R. y S. E. García D. 2007. Enfermedades Forestales en México/ Forest Diseases in Mexico. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR-SEMARNAT, México, Forest Service USDA, EUA, NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. México. 587 p.
- Cibrián T., D., J.T. Méndez M., R. Campos B., H.O. Yates III y L. Flores J. 1995. Insectos Forestales de México/Forest Insects of México. Universidad Autónoma Chapingo, SARH Subsecretaría Forestal y de Fauna Silvestre, USDA Forest Service, Natural Resources, Canadá, Comisión Forestal de América del Norte/ North American Forestry Commission. México. 453 p.
- 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 (*Phaeocryptopus gaeumannii* (Rhode) Petrak) en *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca* (Beissn.) Mayr. Revista Mexicana de Ciencias Forestales 5:22. 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.
- Cooke, B. M., Jones, D. G., and Kaye, B. 2006. The epidemiology of plant diseases. Dordrecht, The Netherlands: Springer. Second edition. 576 p.

- Cruz J., J. 2007. Etiología del tizón suizo (*Phaeocryptopus gaeumannii*) en *Pseudotsuga macrolepis* Flous, como árbol de navidad. Tesis de Maestría. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 106 p.
- Cruz, B. M., F. Hernández y F. Rivas E. 2006. Mecanismos de resistencia de las plantas al ataque de patógenos y plagas. pp. 45-54. *In: Temas de Ciencia y Tecnología* 10:29 mayo-agosto 2006.
- Da Ronch, F., G. Caudullo and D. de Rigo. 2016. *Pseudotsuga menziesii* in Europe: Distribution, habitat, usage and threats. pp. 146-147. *In: San-Miguel-Ayanz, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston Durrant, T., Mauri, A. (Eds.). European Atlas of Forest Tree Species. Publ. Off. EU, Luxembourg.*
- Dennis, R. W. G. 1978. British Ascomycetes. J. Cramer. Vaduz, Alemania. 585 p.
- Domínguez A., F. A. 1994. Análisis histórico ecológico de los bosques de *Pseudotsuga* en México. El palmar, Veracruz, INIFAP. Campo experimental El palmar. División Forestal. Veracruz, México. 23-43 pp.
- 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.
- 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 Phytologist* 163:1 139-147.
- Fageria, N. K., V. C. Baligar y C. A. Jones. 2011. Growth and mineral nutrition of field crops. Third edition. CRC Press. 554 p.
- Farjon, A., y D. Filer. 2013. An atlas of the world's conifers: an analysis of their distribution, biogeography, diversity and conservation status. Brill. 512 p.
- Funk, A. 1985. Foliar fungi of western trees. 159 p.



- Gadgil, P. D. 1967. Infection of *Pinus radiata* needles by *Dothistroma pini*. New Zealand Journal of Botany 5:4. 498-503.
- Gäumann, E. 1930. Über eine neue Krankheit der Douglasien. Schweiz. Z. Forstwes. 81: 63–67.
- Gäumann, E. 1964. Die Pilze, Basel. 541 p.
- Gernandt, D. S., y J. A. Pérez-de la Rosa. 2014. Biodiversidad de Pinophyta (coníferas) en México. Revista Mexicana de Biodiversidad 85. 126-133.
- Hansen, E. M., y K. J. Lewis. 2003. Plagas y enfermedades de las coníferas. APS. Mundi-Prensa. España. 101 p.
- 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 Disease 84:7 773-778.
- Hawksworth, F. G. y D. Wiens. 1972. Biology and classification of dwarf mistletoes (*Arceuthobium*). Agriculture handbook No. 401. USDA Forest Service. Washington, D. C. 124 p.
- Hermann, R. K. 2014. Areas of introduction. pp. 31-72. *In*: Lavender, D. P., and R. K. Hermann. Douglas-fir: the genus *Pseudotsuga*. College of forestry. OSU.
- Hernández A., G. 2009. Determinación del período de liberación de ascosporas de *Phaeocryptopus gaeumannii* (Rhode) Petrak en plantaciones de árboles de navidad. Tesis de Licenciatura. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 74 p.
- Herrera Y., L., S. Mayea y D. Seidel. 1987. Fitopatología General. Ciudad de la Habana: Editorial Pueblo y Educación. 39-47 pp.
- Hood, I. A. and D. Kershaw. 1975. Distribution and infection period of *Phaeocryptopus gaeumannii* in New Zealand. New Zealand Journal of Forestry Science 5: 201-208.

- Ivory, M. H. 1972. Infection of *Pinus radiata* foliage by *Scirrhia pini*. Transactions of the British Mycological Society 59:3 365-375.
- Johnson, G. R. 2002. Genetic variation in tolerance of Douglas-fir to Swiss needle cast as assessed by symptom expression. *Silvae Genetica*. 51:2-3 80-88.
- Johnson, G. R., B. L. Gartner, D. Maguire, and A. Kanaskie. 2003. Influence of Bravo fungicide applications on wood density and moisture content of Swiss needle cast affected Douglas-fir trees. *Forest Ecology and Management* 186:1 339-348.
- Kastner, W., S. Dutton and D. Roche. 2001. Effects of Swiss needle cast on three Douglas-fir seed sources on a low-elevation site in the northern Oregon Coast Range: Results after five growing seasons. *Western Journal of Applied Forestry* 16:1 31-34.
- Kimberley, M. O., I. A. Hood and R. L. Knowles. 2011. Impact of Swiss needle-cast on growth of Douglas-fir. *Phytopathology* 101:5 583-593.
- Lavender, D. P. and R. K. Hermann. 2014. Douglas-fir: the genus *Pseudotsuga*. College of Forestry. OSU. 352 p.
- Leyva M., S. G. y B. Tlapal. B. 2013. Manual de Micología Taxonómica. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 205 p.
- Manter, D. K. 2002. Energy Dissipation and Photoinhibition in Douglas-Fir Needles with a Fungal-Mediated Reduction in Photosynthetic Rates. *Journal of Phytopathology* 150:11-12 674-679.
- Manter, D. K., B. J. Bond, K. L. Kavanagh, J. K. Stone, and G. M. Filip. 2003. Modelling the impacts of the foliar pathogen, *Phaeocryptopus gaeumannii*, on Douglas-fir physiology: net canopy carbon assimilation, needle abscission and growth. *Ecological Modelling* 164:2-3 211-226.

- 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 Phytologist* 148:3 481-491.
- Manter, K. D., P. W. Reeser and J. K. Stone. 2005. A climate - based model for predicting geographic variation in Swiss needle cast severity in the Oregon Coast Range. *Phytopathology* 95:11 1256-1265.
- Marschner, H. 1995. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Second edition. Academic press. 889 p.
- Marschner, H. 2012. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Third edition. Academic press. 651 p.
- Martínez, M. 1963. Las pináceas mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 362 p.
- Méndez M., J. T y R. Campos B. 1991. Insectos y patógenos asociados a *Pseudotsuga* sp. En México. p. 37. *In: VI Simposio Nacional sobre Parasitología Forestal. Sociedad Mexicana de Entomología A.C., Universidad Autónoma Chapingo, Subsecretaría Forestal, Universidad Autónoma de Nuevo León y Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.*
- Mendoza-Campos, A., D. Cibrián-Tovar y V.D. Cibrián-Llenderal. 2011. Control del tizón suizo *Phaeocryptopus gaeumannii* en plantaciones de árboles de navidad del Estado de Puebla. p.183 *In: Memoria del XVI Simposio Nacional de Parasitología Forestal. UAEM. Cuernavaca, Morelos. CONAFOR.*
- Michaels, E. and G. Chastagner. 1984. Seasonal availability of *Phaeocryptopus gaeumannii* ascospores and conditions that influence their release. *Plant Disease* 68:11 942-944.

- Monárrez G., J. C. 2000. Guía para el establecimiento, manejo y comercialización de plantaciones especializadas de Árboles de Navidad. Tesis de Licenciatura División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 94 p.
- Morton, H. L. and R. F. Patton. 1970. Swiss needle cast of Douglas-Fir in the Lake States. *Plant Disease Reporter* 54:7 612-616.
- Munévar, M. F. 2004. Relación entre la nutrición y las enfermedades de las plantas. *Sanidad vegetal. PALMAS*. Vol. 25 No. Especial, Tomo II. 171-178 pp.
- Musálem M., A. 2006. *Silvicultura de plantaciones forestales comerciales*. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 213 p.
- Myren, D. T. 1984. Needle cast of Douglas-fir caused by *Rhabdocline pseudotsugae* subsp. *pseudotsugae* and *Phaeocryptopus gaeumannii* in Ontario. *Plant Disease* 68:12
- Osorio O., M. 2007. Detección del hongo defoliador *Phaeocryptopus gaeumannii* en plantaciones de *Pseudotsuga menziesii* de Valdivia, Chile. *Bosque* 28:1 69-74.
- Preston, R. J. 1976. *North American Trees (exclusive of Mexico and tropical United State)*. Third edition. The Iowa State University Press. Ames, Iowa. USA. 63 p.
- Robinson, A. R. 1987. *Host management in crop pathosystems*. Macmillan Publishing Company. 263 p.
- Robinson, A. R. 2007. *Return to resistance: breeding crops to reduce pesticide dependence*. Sharebooks Publishing. Third edition. 569 p.
- Romero, R., F. y C. Villanueva V. 2000. *Resistencia vegetal a insectos y ácaros: los conceptos y las bases*. 318 p.
- Russell, G. E. 1978. *Plant breeding for pest and disease resistance*. Butterworths, London and Boston. 485 p.

- Rzedowski R., J. 2006. Vegetación de México. 1ra. Edición digital. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 504 p.
- Sampedro L., Z. R. 2013. Resistencia de los pinos a plagas y enfermedades: nuevas oportunidades de control fitosanitario. Sociedad española de Ciencias Forestales. 6to. Congreso Forestal Español. 11-20 pp.
- Skilling, D.D. 1981. Control of Swiss needle cast in Douglas-fir. *American Christmas Tree J.* 25:3 34-37.
- Stone J., D. Luoma, B. Black, and D. Shaw. 2010. Swiss needle cast epidemiology environmental factors affecting disease distribution and severity. Oregon State University (OSU). [En línea]. Disponible en: <https://bit.ly/2QPkMIX> (revisado el 15 de marzo de 2018).
- Stone, J. K. and G. Carroll. 1985. Observations of the development of ascocarps in *Phaeocryptopus gaeumannii* and on the possible existence of an anamorphic state. *Sydowia* 38:317-323.
- Stone, J. K., B. R. Capitano, and J. L. Kerrigan. 2008. The histopathology of *Phaeocryptopus gaeumannii* on Douglas-fir needles. *Mycologia* 100:3 431-444.
- 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*). *Forest Pathology* 34:6 383-394.
- Temel, F., J. K. Stone, and G. R. Johnson. 2003. First report of Swiss needle cast caused by *Phaeocryptopus gaeumannii* on Douglas-fir in Turkey. *Plant Disease* 87:12 1536-1536.
- Velázquez-Mendoza, J., O.J. Salgado-Feregrino, M.D.J. Yáñez-Morales, y M. Jiménez-Casas. 2017. *In vitro* primer reporte del efecto de nutrimentos y del silicio en el

- crecimiento de *Phaeocryptopus gaeumannii*, un patógeno de *Pseudotsuga menziesii*. Revista Mexicana de Fitopatología 35(1): 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 in Mycology. 87: 257–421.
- Villagómez L., M. A., y M. A. Bello G. 2015. *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco var. *glauca* (Beissn.) Franco: nuevo registro para Guanajuato. Revista Mexicana de Ciencias Forestales 6:30 66-73.
- Willmer, C. and M. Fricker. 1996. Stomata (Vol. 2). Springer Science & Business Media. 375 p.
- Winjum, J. K., and P. E. Schroeder. 1997. Forest plantations of the world: their extent, ecological attributes, and carbon storage. Agricultural and Forest Meteorology. 84:1-2 153-167.
- Winton, L. M., J. K. Stone, E. M. Hansen, and R. A. Shoemaker. 2007. The systematic position of *Phaeocryptopus gaeumannii*. Mycologia 99:2 240-252.

# CAPITULO I. VARIACIÓN DEL GRADO Y DINÁMICA TEMPORAL DE LA INFESTACIÓN DEL TIZÓN SUIZO EN AQUIXTLA, PUEBLA

## 1.1 Resumen

El tizón suizo es una enfermedad propia de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, originada por el hongo *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petrak. Los principales signos son la presencia de pseudotecios oscuros en lo estomas y los síntomas característicos son acículas cloróticas y su abscisión prematura, representando un problema en plantaciones de árboles de navidad en México. El objetivo de este estudio fue determinar la relación e impacto del tizón suizo con la transparencia de copa y evaluar el efecto de aplicaciones de fungicidas químicos y fertilizantes inorgánicos en el nivel de variación del grado y dinámica temporal de infestación en *Pseudotsuga menziesii*. El estudio se estableció en el predio “Reserva Multifuncional El Manantial” en Aquixtla, Puebla. Los tratamientos aplicados fueron fertilización con urea y sulfato de potasio y control fitosanitario químico con propiconazol y prochloraz. Se utilizó un diseño experimental factorial  $3^2$  con un arreglo en bloques al azar generalizado tomando como factor de bloqueo el nivel visual de transparencia de copa asociado a la intensidad de daño del tizón suizo. Se evaluaron las acículas retenidas, acículas caídas, índice de colonización, área foliar, diámetro basal y la longitud de brotes. La retención de acículas fue fomentada principalmente por los tratamientos propiconazol y prochloraz con sulfato de potasio, pero desfavorecida por la interacción urea con prochloraz y el tratamiento con urea. El sulfato de potasio (SK) tuvo influencia para la retención de acículas. El índice de colonización (IC) aumentó con el propiconazol con sulfato de potasio y prochloraz con sulfato de potasio aumentó el área foliar media. Los valores de la cohorte de edad mostraron diferencias en todas las variables estudiadas, la retención de acículas y el área foliar son mayores en la cohorte 2017, el IC es mayor en el follaje 2016. En el caso de los fertilizantes, la aplicación de urea disminuye la retención de acículas. Ambos fungicidas tienen un efecto mayor en comparación con el testigo en la retención del follaje, aunque es mejor el propiconazol. Los árboles en los diferentes grupos de transparencia de copa de la enfermedad fueron similares con respecto al IC, sin embargo, los árboles en el grupo de transparencia de copa baja retuvieron mayores

cantidades de acículas y en general el follaje era más verde. Las acículas retenidas (ACR) disminuyeron con una mayor cantidad del patógeno en los árboles de la categoría de transparencia de copa baja. Debido a que el IC no difirió significativamente entre los grupos, las diferencias en las ACR se pueden atribuir a la tolerancia. El modelo logístico se ajustó mejor a los datos de número de pseudotecios para todos los tratamientos, aunque no existen diferencias significativas entre las tasas relativas de incremento de la enfermedad. La transparencia de copa, asociada a la cantidad de follaje retenido redujo el diámetro basal, la longitud del brote y el área foliar. El desarrollo de los pseudotecios principalmente se acumula en la punta y parte media de cada acícula. Se demuestra que la cantidad de pseudotecios en las acículas de *P. menziesii* expresado como severidad, incidencia o el producto de ambos tienen una relación inversamente proporcional con la retención del follaje.

**Palabras clave:** *Pseudotsuga menziesii*, Acículas, Pseudotecios, Transparencia de copa.



## 1.2 Abstract

Swiss needle cast (SNC) is a disease of *Pseudotsuga menziesii*, originated by the fungus *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petrak. Signs are the presence of dark pseudothecia in the stomata and the characteristic symptoms are chlorotic needle and its premature abscission, representing a problem in christmas tree plantations in Mexico. The objective of this study was to determine the relationship and impact of SNC with crown transparency and to evaluate the effect of applications of chemical fungicides and inorganic fertilizers on the level of variation of the degree and temporal dynamics of infestation in *P. menziesii*. The study was established in "Reserva Multifuncional El Manantial" property in Aquixtla, Puebla. The applied treatments were fertilization with urea and potassium sulphate and chemical phytosanitary control with propiconazol and prochloraz. A 3<sup>2</sup> factorial experimental design with a generalized randomized block arrangement was used, taking as a blocking factor the visual level of crown transparency associated with the intensity of SNC. Needle retention, needle abscission, colonization index, leaf area, basal diameter and shoot length were evaluated. Needle retention was promoted mainly by the treatments propiconazol and prochloraz with potassium sulphate, and it was reduced by the interaction of urea with prochloraz and the treatment with urea alone. Potassium sulfate influenced on needle retention. Colonization index (CI) was higher when propiconazol with potassium sulfate was applied. The prochloraz interaction with potassium sulfate significantly increased leaf area. The area under the curve for the age cohort values showed differences in all the variables studied; needle retention and leaf area are higher in the 2017 cohort, while the CI is higher in foliage 2016. In the case of fertilizers, the application of urea decreased the needle retention. Trees receiving both fungicides showed better needle retention than control ones. Because the CI did not differ significantly between the crown transparency groups, the differences in needle retention can be attributed to tolerance. Number of pseudothecia fitted well to the logistic model for all treatments, although no significant differences were found for the relative rates of increase of the disease. The crown transparency, associated with needle retention, reduced the growth of the basal diameter, length of the shoot and foliar area. Pseudothecia mainly accumulated in the tip and middle needle. The amount of

pseudothecia on *P. menziesii* needles expressed as severity, incidence or the product of both inversely related to foliage retention.

**Key words:** *Pseudotsuga menziesii*, Needles, Pseudothecia, Crown transparency.

### 1.3 Introducción

El establecimiento de plantaciones forestales comerciales de árboles de navidad en México representa una actividad desarrollada desde 1969 (Cibrián, 2009). De acuerdo con la CONAFOR (2017) el Estado de México y Guanajuato tienen el 51.02 % de la superficie plantada de árboles de navidad; con respecto al número de productores y comercializadores, CDMX y Estado de México, tienen el 56.77 %. Para el año 2016 se reportaron plantaciones comerciales en 19 estados de la república, además, de las especies que se producen en México, *Pseudotsuga menziesii* ocupa el 10 % de la superficie establecida (CONAFOR, 2017).

El tizón suizo es una enfermedad específica de *P. menziesii* causada por el hongo *P. gaeumannii*; es considerada la enfermedad foliar más dañina del abeto de Douglas (Ritóková, 2016). *P. gaeumannii* fue reportado por primera vez en Suiza (Boyce, 1940); Con el tiempo se dedujo que el patógeno es nativo de Norteamérica y que fue introducido accidentalmente a Europa (Stone *et al.*, 2008). En México se encuentra a *P. gaeumannii*, distribuyéndose en el bosque natural de la Sierra Madre Occidental, Sierra Madre Oriental, Sierra Madre del Sur y en plantaciones del centro del país (Cibrián *et al.*, 2014).

En la actualidad este patógeno se ha expandido a varias regiones donde *Pseudotsuga* spp. es una especie introducida, constituyendo un problema en el cultivo de árboles de navidad (Osorio, 2007; Temel *et al.*, 2003). Los síntomas característicos de los árboles dañados son acículas cloróticas, pobre retención de acículas y la reducción del crecimiento. Las plantaciones dañadas severamente pueden perder todo el follaje de años anteriores, y el principal signo son los pseudotecios en el envés de las acículas (Kimberley, 2011).

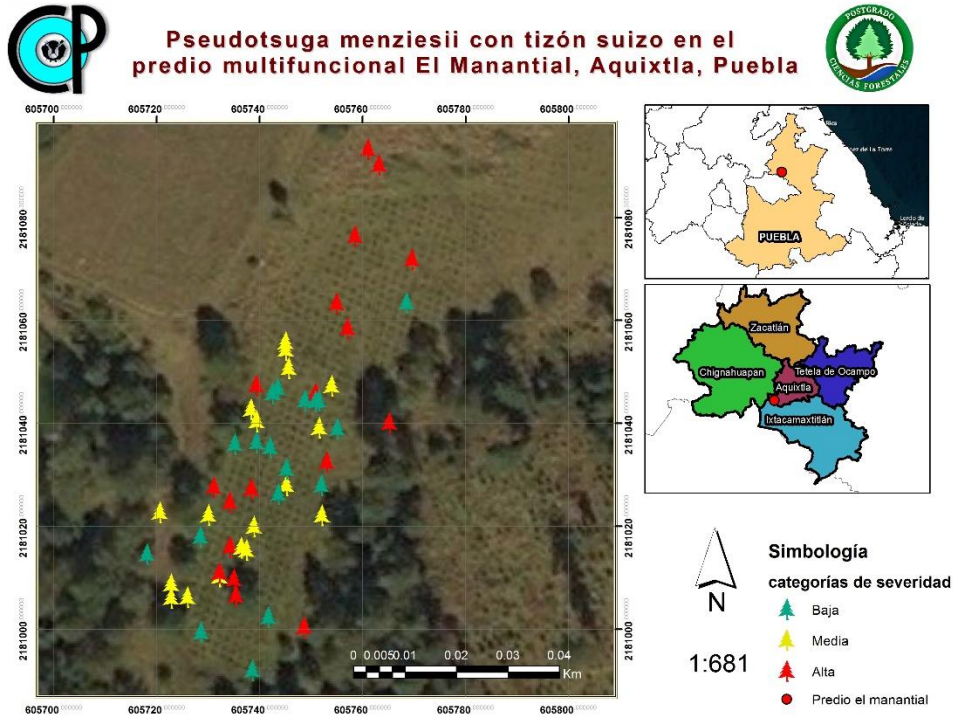
Como medida de protección se recomienda aplicar clorotalonil o azufre elemental: se sugiere iniciar las aspersiones cuando los brotes de crecimiento tienen menos de 6 cm de longitud, a finales de abril y continuarlas hasta finales de junio; las aplicaciones deben ir dirigidas hacia brotes nuevos y follaje en desarrollo (Cibrián *et al.*, 2007). Por otra parte, existen evidencias de que el ingrediente activo propiconazol es más efectivo y el efecto del hongo *Trichoderma* sp. no es recomendable como producto preventivo (Mendoza-

Campos *et al.*, 2011). Algunos autores señalan que el exceso de nitrógeno incrementa la severidad del tizón suizo (El-Hajj *et al.*, 2004); en general no es claro el efecto de la fertilización sobre esta enfermedad (Mulvey *et al.*, 2013). Por su parte Velázquez-Mendoza *et al.* (2017) reportan el efecto *in vitro* de Cu, Mn y Zn inhibiendo el desarrollo del hongo. El objetivo de esta investigación fue determinar la relación e impacto del tizón suizo con la transparencia de copa y evaluar el efecto de aplicaciones de fungicidas químicos y fertilizantes inorgánicos en el nivel de variación del grado y dinámica temporal de infestación del tizón suizo en una plantación de *P. menziesii*.

## **1.4 Materiales y métodos**

### **1.4.1 Área de estudio**

El conjunto predial denominado “Reserva Forestal El Manantial” S. C. (PRF “El Manantial”) con una superficie total de 266.8 ha (Delgado y Garnica, 2008) se ubica en la región de la “Sierra Norte” del estado de Puebla, entre los 19° 42' 27.4" y 19° 44' 37.6" de latitud norte y los 98° 00' 43.9" y 97° 58' 56.5" de longitud oeste. Agrupa un total de cinco predios: 1. Los Corrales, 2. El Ocote, 3. Fracción Ocojala-Sierra Mojada, 4. Fracción Chichicaxtla y 5. Fracción 1, 1 bis, 2, 2 bis y 2 bis Chichicaxtla, los cuales se encuentran distribuidos en los municipios de Aquixtla e Ixtacamaxitlán (Castaños y Castro, 2014; INEGI, 2007) (Figura 5).



**Figura 5.** Ubicación del sitio de estudio y distribución de las unidades experimentales por categoría de transparencia de copa.

#### 1.4.1.1 Altitud

Con una topografía accidentada dominando pendientes de entre 20 y 60% y altitudes de los 17 2650 m hasta los 3178 m (Castaños y Castro, 2014). El experimento se estableció en el paraje “sierra mojada” con una altitud media de 3000 msnm, en un área aproximada de 0.24 ha en las siguientes coordenadas geográficas: 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.

#### **1.4.1.2 Hidrografía**

El PRF “El Manantial”, se encuentra dentro de la Región Hidrológica No. 27 Tuxpan-Nautla (INEGI, 2017) y forma parte de las subcuencas Río Tecuantepec y Río Apulco de la Cuenca Tecolutla (INEGI, 2017). Además de ser parte de la Subprovincia fisiográfica Lagos y Volcanes del Anáhuac como parte de la Provincia Eje Neovolcánico (Castaños y Castro, 2014). Debido al antecedente geológico de tipo volcánico, predominan en el área de estudio la unidad de suelo de tipo Andosol y la subunidad húmico (FAO-UNESCO, 1998).

#### **1.4.1.3 Clima**

Se identifican dos tipos de climas conforme al sistema de clasificación climática de Köppen modificado por García (1964), como resultado del relieve dominante, de la altitud y por la influencia de los vientos alisios con humedad proveniente del Golfo de México: 1) templado subhúmedo con lluvias en verano C(w1) por debajo de la cota de los 3000 m, con una temperatura media anual entre 12° y 18 °C, temperatura del mes más frío entre -3° a 18 °C y durante el mes más caliente de 22 °C, con una precipitación total anual de 600 a 1000 mm, y 2) templado subhúmedo de mayor humedad C(w2) por arriba de dicha cota altitudinal, el cual únicamente difiere en la precipitación total anual que va de 700 a 1500 mm (Castaños y Castro, 2014; García, 1964).

#### **1.4.1.4 Vegetación**

La vegetación dominante en el PRF “El Manantial” corresponde a masas mezcladas de pino (*Pinus patula*, *P. pseudostrobus*, *P. ayacahuite*, *P. rudis* y *P. teocote*) y oyamel (*Abies religiosa*), así como rodales puros de pino (*P. patula*) y de oyamel. En el estrato arbustivo dominan principalmente *Arbutus xalapensis* y *Baccharis conferta* (Castaños y Castro, 2014).

### 1.4.2 Diagnóstico nutrimental

Se recolectaron las ramillas con acículas del año 2017 mediante un muestreo sistemático en zig-zag, colectando 5 submuestras por transecto. Las muestras se recolectaron en agosto de 2017, incluyendo hojas maduras, no senescentes, provenientes de la parte media de la ramillas, localizadas en el tercio superior de la copa de los árboles (Wells y Allen, 1985). Se utilizaron cuatro muestras compuestas homogenizadas por cada transecto; fueron lavadas con agua de la llave y posteriormente con agua destilada para evitar contaminantes. Las muestras se colocaron en bolsa de papel estraza y fueron secadas en una estufa de circulación forzada marca FELISA, a 70 °C por 72 h, y posteriormente fueron molidas en un mortero.

En el laboratorio de nutrición vegetal del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, se analizaron las muestras foliares determinando los macronutrientes nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y los micronutrientes boro, cobre, manganeso y zinc; La interpretación de los análisis foliares se hizo mediante las concentraciones críticas de Ballard y Carter (1986) *para Pseudotsuga menziesii*; con base en éstas se determinó que el nitrógeno y el potasio son deficientes en el sitio de estudio. La dosis de macronutrientes y micronutrientes se calculó considerando que los árboles tienen aproximadamente 1 kg de biomasa foliar, adoptando 40% de eficiencia de la fertilización y utilizando la concentración crítica de boro como base para calcular la dosis de micronutrientes. Se emplearon los fertilizantes inorgánicos urea (46-0-0), sulfato de potasio (0-0-50 18S) y el producto comercial Sagaquel Combi®. La dosis de urea, ácido fosfórico y sulfato de potasio se calculó con base en las concentraciones críticas mencionadas, considerando 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; todas las unidades experimentales recibieron una dosis de 5 g de ácido fosfórico y una dosis de 15 g del producto Sagaquel combi® (micronutrientes), al iniciar el experimento en noviembre de 2017.

### 1.4.3 Nivel de transparencia de copa y selección de fungicidas

Para evaluar el nivel de daño de los síntomas del tizón suizo asociadas al hospedero, se han utilizado variables cualitativas y cuantitativas como el color del follaje (i.e. clorosis), retención de follaje y densidad de follaje de la copa (i.e. transparencia de copa) (Johnson, 2002; Maguire *et al.*, 2002; Temel *et al.*, 2004).

Se determinaron tres grados de severidad del tizón suizo con respecto a la transparencia de la copa, todos estos de manera visual, que sirvieron para bloquear (i.e. factor de confusión) con respecto al diseño experimental. Se marcaron los bloques colocando listones de diferente color para cada uno de ellos (verde=bajo, naranja=medio, rojo=alto) (Figura 6).

Se seleccionaron dos fungicidas que no se encontraran en la lista de plaguicidas altamente peligrosos de la FSC 2017 (Forest Stewardship Council: Consejo de Administración Forestal) (FSC, 2017). Se optó por evaluar el efecto del propiconazol y del prochloraz. Las dosis de fungicidas fueron de 1 mL de producto comercial+2 mL del producto adherente Dap-plus<sup>®</sup> por cada L de agua, se aplicó los productos Tilt<sup>®</sup> (propiconazol) y Sportak<sup>®</sup> (prochloraz) por cada unidad experimental. Las aplicaciones de los fungicidas se realizaron a la copa de los árboles con una mochila aspersora manual de la marca SWISSMEX<sup>®</sup>. Se realizaron dos aplicaciones de los productos fungicidas en noviembre y diciembre de 2017.





**Figura 6.** Nivel de transparencia de copa de los árboles: A) nivel bajo, B) nivel medio y C) nivel alto.

#### 1.4.4 Establecimiento del experimento

El experimento consistió en un diseño factorial  $3^2$  con un arreglo en bloques al azar generalizado, con tres niveles de fertilizantes inorgánicos: urea, sulfato de potasio y un testigo; tres niveles de fungicidas: propiconazol, prochloraz y un testigo. Las unidades experimentales seleccionadas fueron debidamente aleatorizadas en R 3.5.2 (R Core Team, 2018) con el paquete agricolae, con la función design.ab. Cada tratamiento tuvo dos individuos por bloque y en total cada tratamiento tuvo seis individuos; por lo que se requirió de 54 individuos (i.e. unidades experimentales). Los tratamientos fueron aplicados en noviembre de 2017. Se realizaron evaluaciones mensuales de enero a mayo de 2018. En noviembre se realizó una evaluación preliminar sin efecto de los tratamientos. Los muestreos corresponden a  $m_1=0$  días,  $m_2=63$  días,  $m_3=91$  días,  $m_4=119$  días,  $m_5=147$  días y  $m_6=175$  días transcurridos desde la aplicación de los tratamientos.

## 1.4.5 Variables evaluadas

### 1.4.5.1 Acículas retenidas y caídas

Las muestras fueron recolectadas en la exposición sur y parte media de la copa, en las ramillas de cuarto a quinto orden (Hansen *et al.*, 2000; Manter *et al.*, 2003; Temel *et al.*, 2004). Las muestras se colocaron en bolsas de polietileno herméticas para su posterior revisión en laboratorio; se mantuvieron en refrigeración hasta su revisión. El número de acículas retenidas (ACR) y el número de acículas caídas (ACC) se realizó por cohorte de edad, el cual consistió en un recuento de las hojas y las cicatrices que tenía la ramilla. Los conteos se realizaron con un contador manual de cuatro dígitos (Figura 7).

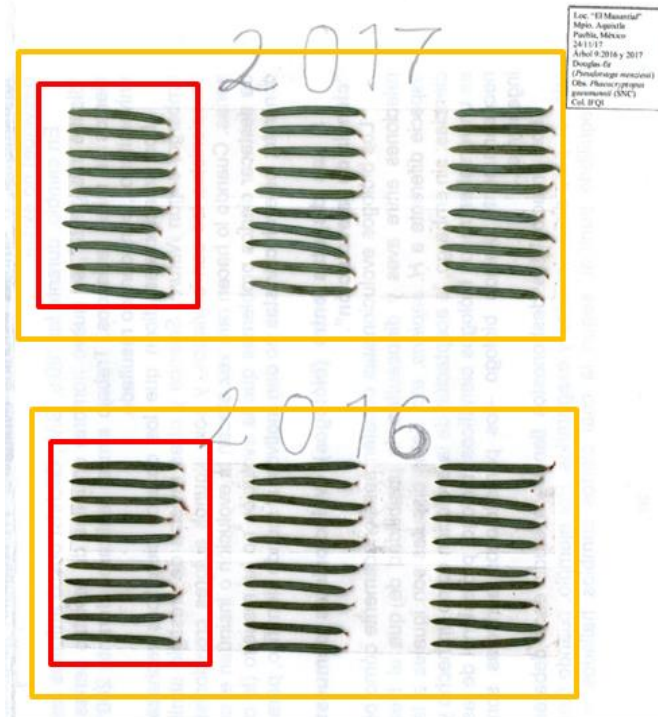


**Figura 7.** Conteo de acículas por cohorte de edad.

#### 1.4.5.2 Índice de colonización

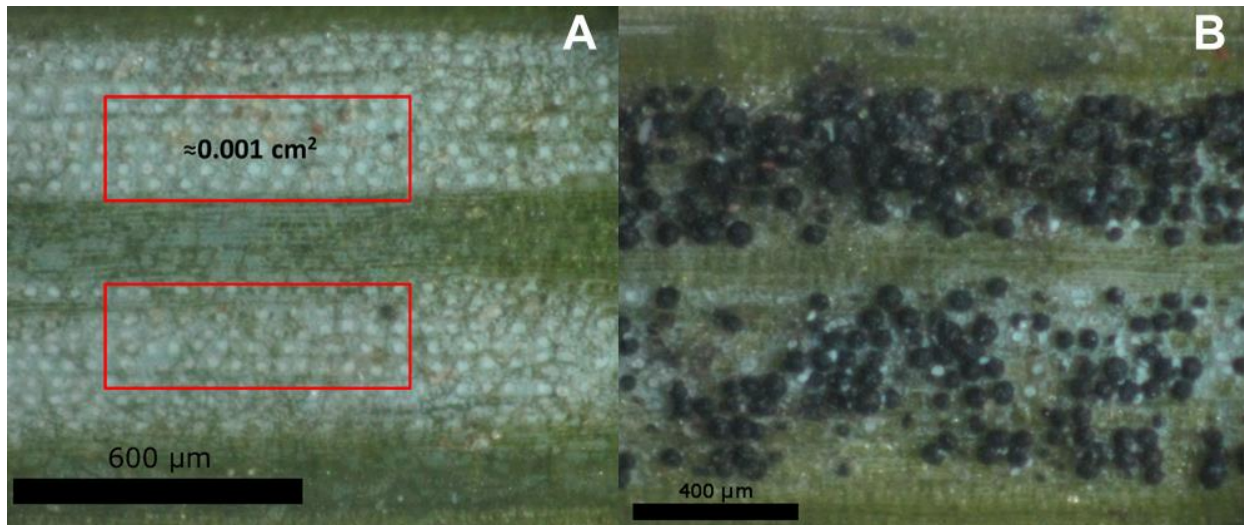
Los métodos para evaluar la colonización o grado de infestación incluyen la proporción de estomas ocluidos con pseudotecios (Hansen *et al.*, 2000) y la cantidad de biomasa fúngica en las acículas determinada por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR; Winton *et al.*, 2003) o ergosterol (Manter *et al.*, 2001); por otra parte, se han empleado varias variables cualitativas para evaluar el nivel de daño de los síntomas del tizón, incluyendo: el color del follaje (clorosis), retención de follaje y densidad de follaje de la copa (i.e. transparencia de copa) (Johnson, 2002; Maguire *et al.*, 2002; Temel *et al.*, 2004).

Para evaluar el grado de infección del tizón suizo se utilizó la metodología de Hansen *et al.* (2000) con algunas modificaciones para evaluar la incidencia y severidad. La muestra se adhirió en cartulinas tamaño carta (21.6 cm x 27.9 cm) con cinta doble cara, de manera que las superficies abaxiales de las acículas quedaran hacia arriba, con su debida etiqueta, seleccionando 30 acículas de cada cohorte (edad). De la primera columna, se revisaron 10 acículas para evaluar la severidad por tercios y de las 30 hojas se evaluó la incidencia (i.e. presencia o ausencia del patógeno) (Figura 8).



**Figura 8.** Acículas tomadas en cuenta para medir la incidencia (marca naranja) y severidad (marca roja).

Para la severidad se realizaron recuentos de la proporción de estomas ocluidos por pseudotecios (i.e. densidad de pseudotecios) en tres ubicaciones distintas a lo largo de cada acícula dividida en tres secciones de igual longitud (base, media y punta) dada la longitud total. En cada tercio, se seleccionó un punto de inicio aleatorio para el recuento y se examinaron 100 estomas totales (50 a cada lado de la nervadura central). Los estomas se examinaron consecutivamente, moviéndose perpendicularmente a la nervadura central, y se registró el número de estomas ocluidos por pseudotecios (de cada 100 estomas examinados) (Figura 9). En total se revisaron 300 estomas por acícula.



**Figura 9.** Acículas por cohorte de edad: A) 2017 y B) 2016; el área evaluada para medir la severidad es de aproximadamente  $0.001 \text{ cm}^2$ ; aproximadamente hay 5000 estomas  $\text{cm}^{-2}$ .

Los recuentos de pseudotecios se realizaron con un contador manual de cuatro dígitos, en un microscopio estereoscópico Leica® ZOOM 2000 a 45x en la División de Ciencias Forestales (DICIFO) de la Universidad Autónoma Chapingo en el período de enero a noviembre de 2018.

El cálculo del índice de colonización fue de acuerdo con Manter *et al.* (2005), quienes indican que el índice de colonización es el producto de las medias de la severidad y la incidencia. Este índice fue calculado por cada árbol o unidad experimental/acícula-cohorte de edad, para proporcionar una mejor estimación de la densidad media de pseudotecios.

### 1.4.5.3 Área foliar

Los formatos donde fueron adheridas las acículas, se digitalizaron en un escáner EPSON® modelo L395, con una resolución de 300 ppp; los archivos JPG fueron procesados con el programa libre IMAGE-J 1.48. El procesamiento para obtener el área foliar consiste en duplicar la imagen original y convertir la nueva imagen a escala de grises a 8 bits, luego se efectúa la segmentación mediante el ajuste de los umbrales de color; lo anterior crea una imagen binaria que permite discriminar entre el fondo (blanco) y las acículas o

regiones de interés (negro). Posteriormente se establece una medida de referencia o escala, para la medición del área foliar por acícula en  $\text{cm}^2$ .

#### **1.4.5.4 Diámetro basal**

Se midió el diámetro basal (Db) de cada árbol con una cinta diamétrica, aproximadamente a 5 cm del suelo de cada uno de los árboles seleccionados en el experimento.

#### **1.4.5.5 Longitud de brotes**

Se midió con un vernier graduado en cm de cada una de las cohortes de edad (2016 y 2017).

#### **1.4.6 Análisis estadístico**

Para analizar la información recabada de noviembre 2017 a mayo 2018 se realizó un análisis de varianza mixto o de medidas repetidas en el tiempo; se utilizaron las variables acículas retenidas (ACR), severidad promedio (Sevmed), índice de colonización (IC) y área foliar media (Afmmed), todas tomadas por cohorte de edad. Los análisis fueron llevados a cabo en el paquete estadístico SAS<sup>®</sup> 9.4 con PROC MIXED (SAS Institute Inc., 2013).

Se realizó un análisis de varianza utilizando el área bajo la curva progreso de la enfermedad (i.e. ABCPE o ABC) dado que este análisis no necesita ningún tipo de ajuste a modelos predeterminados y, por ende, no requiere de consecuentes transformaciones de valores que puedan confundir los efectos de los tratamientos (Pedroza, 2009). Además, el ABCPE estabiliza la varianza de los valores porcentuales de la enfermedad dentro de los tratamientos, disminuyendo el coeficiente de variación, el cual por lo regular es alto en este tipo de estudios (Pedroza-Sandoval y López, 1995; Berger, 1988). Posterior al ANDEVA se realizó una comparación de medias con la prueba de Tukey; se utilizaron las variables acículas retenidas (ACR), índice de colonización (IC) y área foliar media (Afmmed), todas tomadas por cada cohorte de edad. El ABCPE es expresada en unidades de porciento-días o proporción-días (Campbell y Madden, 1990).

Se utilizó la fórmula trapezoidal (Van Der Plank, 1963; Shaner y Finney; 1977; Simko y Piepho, 2012):  $ABCPE = [(Y_{i+1} + Y_i) / 2] (t_{i+1} - t_i)$ , donde:  $Y_i$  = proporción de enfermedad en la  $i$ -ésima evaluación;  $t_i$  = tiempo en la  $i$ -ésima observación y  $n$  = número de evaluaciones. Los análisis fueron llevados a cabo en el paquete estadístico SAS® 9.4 programado según la metodología de Pedroza (2009). Se utilizaron los valores promedio para graficar las variables contra el tiempo.

Se ajustaron cuatro modelos empíricos de crecimiento temporal: Logístico  $Y=K/(1+\exp(\beta_0-\beta_1*X))$ , Monomolecular  $Y=1-\beta_0*\exp(-\beta_1*(1/X))$ , Gompertz  $Y=K*\exp(-\beta_0*\exp(-\beta_1*X))$  y Exponencial  $Y= \beta_0*\exp(\beta_1*X)$  (Campbell y Madden, 1990; Castillo, 2018) para la variable acumulada número de pseudotecios (i.e. densidad de inóculo) para ambas cohortes evaluadas (2016 y 2017), aunque pueden utilizarse las variables epidemiológicas acumuladas como la incidencia (Rebollar-Alviter *et al.*, 2003); fueron comparadas las tasas relativas de incremento de la enfermedad ( $\beta_1$ ) mediante la prueba de  $t$  (Madden, 1986; Campbell y Madden, 1990; Madden *et al.*, 2007; Kranz, 2003). El ajuste de los modelos se realizó en R 3.5.2 (R Core Team, 2018) con la función `nls` y para seleccionar el mejor modelo se utilizó el cuadrado medio del error (CME), raíz del cuadrado medio del error (RCME), coeficiente de determinación ( $R^2$ ), nivel de significancia de los estimadores ( $Pr>|t|$ ), criterio de información de Akaike (AIC) y criterio de información bayesiano (BIC).

Se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para determinar la relación del grado de transparencia de copa con el diámetro basal, área foliar y longitud de brotes; por otra parte, se comparó la sección o estrato de la acícula con respecto a su nivel de pseudotecios. Mediante regresión lineal simple, se determinó la relación entre el índice de colonización- acículas retenidas e índice de colonización- acículas caídas.

## **1.5 Resultados y discusión**

### **1.5.1 Análisis de varianza mixto**

Para la cohorte 2016 se observó el efecto estadísticamente significativo en la variable área foliar media (Afméd) con respecto a la transparencia de la copa. En el caso de la

cohorte 2017, Afmed tiene diferencias significativas para el efecto del bloque, fungicida y fungicida\*muestreo, aunque esto probablemente está asociado a la heterogeneidad del tamaño de las acículas observadas en campo. En general, se observaron diferencias significativas entre muestreos, probablemente debido a la pérdida de follaje con mayor cantidad de pseudotecios (Cuadro 2). Por otra parte, pudieron influir las tasas de autoinfección (Mundt, 2009).

**Cuadro 2.** ANDEVA tipo III para las variables IC, ACR y Afmed por cohorte de edad del follaje.

Efecto	Variable							
			IC		ACR		Afmed	
	Num GL	Den GL	F-Valor	Pr > F	F-Valor	Pr > F	F-Valor	Pr > F
<b>Cohorte 2016</b>								
Bloque	2	213	0.40	0.6683 <sup>NS</sup>	0.05	0.9500 <sup>NS</sup>	7.16	<b>0.0010</b> <sup>**</sup>
Fungicida	2	43	0.33	0.7172 <sup>NS</sup>	0.50	0.6094 <sup>NS</sup>	2.06	0.1399 <sup>NS</sup>
Nutrimiento	2	43	0.45	0.6389 <sup>NS</sup>	1.91	0.1601 <sup>NS</sup>	0.82	0.4476 <sup>NS</sup>
Fungicida*Nutrimiento	4	43	1.34	0.2708 <sup>NS</sup>	0.68	0.6124 <sup>NS</sup>	1.21	0.3191 <sup>NS</sup>
Muestreo	5	213	57.00	<b>&lt;0.0001</b> <sup>****</sup>	1.24	0.2918 <sup>NS</sup>	2.94	<b>0.0138</b> <sup>*</sup>
Fungicida*Muestreo	10	213	0.92	0.5113 <sup>NS</sup>	0.46	0.9158 <sup>NS</sup>	0.78	0.6472 <sup>NS</sup>
Nutrimiento*Muestreo	10	213	1.57	0.1173 <sup>NS</sup>	0.86	0.5692 <sup>NS</sup>	0.68	0.7401 <sup>NS</sup>
Fungicida*Nutrimiento*Muestreo	20	213	0.87	0.6213 <sup>NS</sup>	0.90	0.5874 <sup>NS</sup>	1.29	0.1884 <sup>NS</sup>
<b>Cohorte 2017</b>								
Bloque	2	213	0.17	0.8473 <sup>NS</sup>	2.41	0.0926 <sup>NS</sup>	4.30	<b>0.0147</b> <sup>*</sup>
Fungicida	2	43	0.83	0.4426 <sup>NS</sup>	1.76	0.1838 <sup>NS</sup>	5.56	<b>0.0071</b> <sup>**</sup>
Nutrimiento	2	43	1.27	0.2920 <sup>NS</sup>	1.45	0.2462 <sup>NS</sup>	2.80	0.0722 <sup>NS</sup>
Fungicida*Nutrimiento	4	43	0.28	0.8863 <sup>NS</sup>	0.36	0.8355 <sup>NS</sup>	0.61	0.6560 <sup>NS</sup>
Muestreo	5	213	4.06	<b>0.0015</b> <sup>**</sup>	4.75	<b>0.0004</b> <sup>***</sup>	4.34	<b>0.0009</b> <sup>***</sup>
Fungicida*Muestreo	10	213	0.67	0.7559 <sup>NS</sup>	1.88	0.0500 <sup>NS</sup>	2.17	<b>0.0208</b> <sup>*</sup>
Nutrimiento*Muestreo	10	213	0.85	0.5795 <sup>NS</sup>	0.42	0.9341 <sup>NS</sup>	1.43	0.1669 <sup>NS</sup>
Fungicida*Nutrimiento*Muestreo	20	213	0.82	0.6823 <sup>NS</sup>	1.19	0.2656 <sup>NS</sup>	0.91	0.5792 <sup>NS</sup>

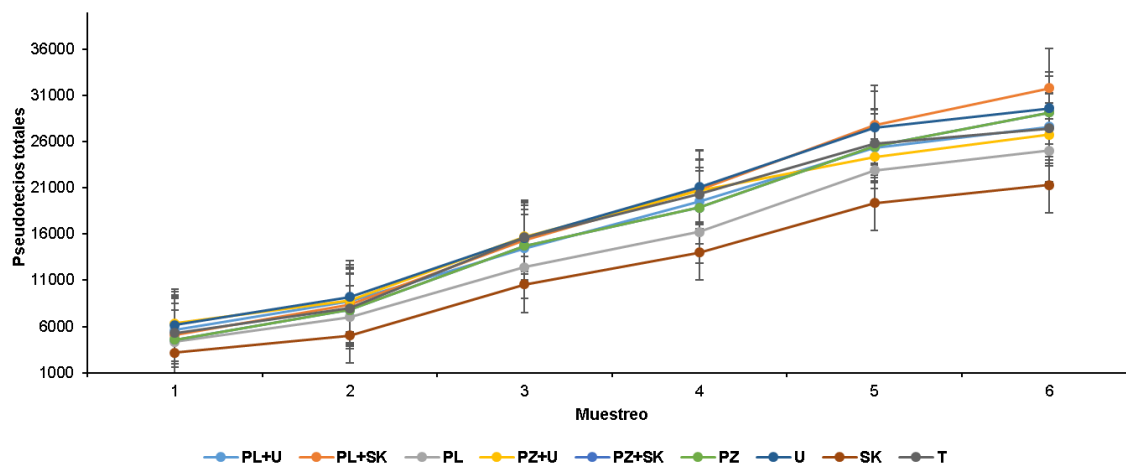
**ACR**= Acículas retenidas totales por cohorte; **IC**=Índice colonización del tizón suizo (Severidad promedio por cohorte\* Incidencia por cohorte\*100); **Afmed**= Área foliar media de una muestra de 30 acículas por cohorte.

**Significancia estadística:** \*\*\*\* p < 0.0001, \*\*\*p<0.001, \*\*p < 0.01, \*p< 0.05 y <sup>NS</sup> No significativo.



### 1.5.2 ABCPE y modelos epidemiológicos

Se seleccionó el modelo logístico como el que mejor ajustó en todos los tratamientos (Figura 10);  $Y=K/(1+\exp(\beta_0-\beta_1*X))$ , los parámetros ajustados del modelo significan:  $Y$ =Porcentaje o cantidad acumulado de daño o infección en el tiempo  $x$ ,  $K$ =Constante de equilibrio o capacidad de carga,  $\beta_0$ : Constante de integración,  $\beta_1$ : Tasa relativa de incremento del daño, infección o enfermedad (Castillo, 2018).



1: T=testigo; 2: PZ+SK=prochloraz+sulfato de potasio; 3: PZ=prochloraz; 4: PZ+U=prochloraz+urea; 5: PL+SK=propiconazol+sulfato de potasio; 6: PL=propiconazol; 7: PL+U=propiconazol+urea; 8: SK=sulfato de potasio; 9: U=urea.

**Figura 10.** Dinámica temporal con respecto al número de pseudotecios por cada tratamiento.

La tasa relativa de incremento de la enfermedad ( $\beta_1$ ) es un componente epidemiológico importante, dado que, es la resultante de la interacción patógeno-hospedante-ambiente, expresando de manera integral el desarrollo de una epidemia en un determinado patosistema (Pedroza, 1995). De acuerdo con la prueba de t, no existen diferencias estadísticamente significativas entre las pendientes de cada tratamiento, aunque el propiconazol tuvo la pendiente más baja y el SK la más alta, sin considerar el tratamiento testigo (Cuadro 3).

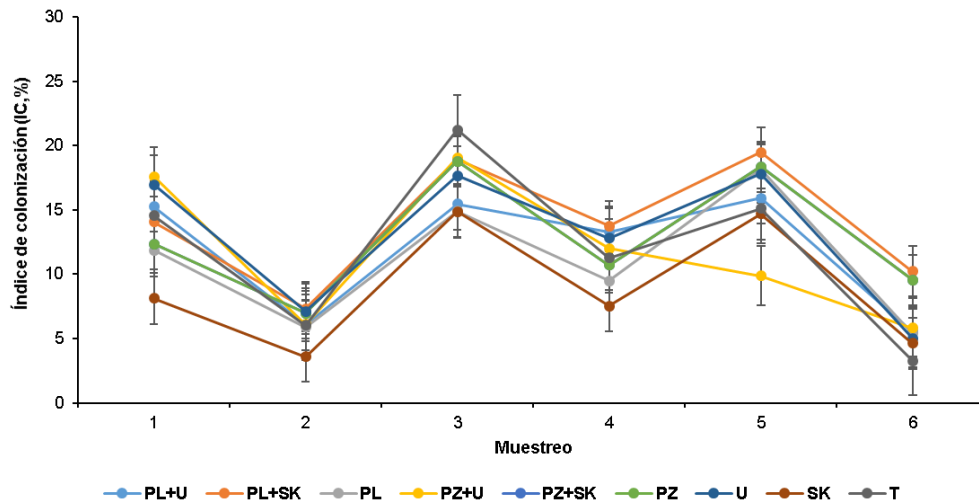
**Cuadro 3.** Estadísticos del modelo logístico ajustado al número de pseudotecios acumulado para ambas cohortes de follaje.

Tratamiento	Estadístico				
	R <sup>2</sup>	K	β <sub>0</sub>	β <sub>1</sub>	E.E. (β <sub>1</sub> )
PL+U	0.9997319	3.199e+04***	2.352e+00***	7.149e-01**	0.06153
PL+SK	0.9996664	3.755e+04***	2.622e+00***	7.256e-01**	0.06037
PL	0.9993877	2.998e+04**	2.549e+00**	7.113e-01**	0.1019
PZ+U	0.9994836	2.930e+04***	2.208e+00**	7.652e-01**	0.09231
PZ+SK	0.9999089	2.691e+04***	2.604e+00***	7.870e-01***	0.0432
PZ	0.9993759	3.421e+04**	2.580e+00***	7.229e-01**	0.09011
U	0.999487	3.430e+04***	2.365e+00***	7.227e-01**	0.07934
SK	0.9995324	2.422e+04***	2.831e+00**	8.180e-01**	0.1114
T	0.9993003	2.990e+04***	2.546e+00**	8.473e-01**	0.1075

1: T=testigo; 2: PZ+SK=prochloraz+sulfato de potasio; 3: PZ=prochloraz; 4: PZ+U=prochloraz+urea; 5: PL+SK=propiconazol+sulfato de potasio; 6: PL=propiconazol; 7: PL+U=propiconazol+urea; 8: SK=sulfato de potasio; 9: U=urea; E.E.: Error estándar de β<sub>1</sub>.

**Significancia estadística:** \*\*\*\* p < 0.0001, \*\*\*p<0.001, \*\*p < 0.01, \*p< 0.05 y <sup>NS</sup> No significativo.

De acuerdo con el área bajo la curva utilizando los valores promedio para graficar las variables contra el tiempo (Figura 11), en el ANDEVA existen diferencias significativas para el área foliar media (P=<0.0001), lo cual concuerda con el análisis de medidas repetidas (Cuadro 4). Existen diferencias entre niveles de transparencia de copa (P=<0.0001), fertilizantes (P=0.0023), la cohorte de edad del follaje (P=0.0270) y la interacción fungicida\*nutrimento (P=0.0179). En el caso de ACR, también hubo diferencias significativas para la transparencia de copa (P=0.0219), fertilizantes (P=0.0197) y la cohorte de edad del follaje (P=<0.0001); la variable IC presentó diferencias significativas para la cohorte de edad (P=<0.0001)(Cuadro 5).



1: T=testigo; 2: PZ+SK=prochloraz+sulfato de potasio; 3: PZ=prochloraz;  
 4: PZ+U=prochloraz+urea; 5: PL+SK=propiconazol+sulfato de potasio; 6: PL=propiconazol;  
 7: PL+U=propiconazol+urea; 8: SK=sulfato de potasio; 9: U=urea.

**Figura 11.** Valores promedio para cada tratamiento por cada evaluación para la variable índice de colonización (IC, %).

**Cuadro 4.** Comparación de medias de Tukey para las variables respuesta (ACR, IC y Afmed) utilizando el área bajo la curva.

Tratamientos	Variable		
	ACR	IC	Afmed
1: T	36029 <sup>A</sup>	4221.2 <sup>A</sup>	112.3803 <sup>AB</sup>
2: PZ+SK	37423 <sup>A</sup>	3593.5 <sup>A</sup>	114.6707 <sup>A</sup>
3: PZ	34574 <sup>A</sup>	4038.3 <sup>A</sup>	106.7464 <sup>AB</sup>
4: PZ+U	30461 <sup>A</sup>	3509.6 <sup>A</sup>	95.1258 <sup>B</sup>
5: PL+SK	36094 <sup>A</sup>	4761.0 <sup>A</sup>	96.1677 <sup>B</sup>
6: PL	38109 <sup>A</sup>	3815.7 <sup>A</sup>	112.8152 <sup>AB</sup>
7: PL+U	35421 <sup>A</sup>	4170.7 <sup>A</sup>	97.2561 <sup>AB</sup>
8: SK	34587 <sup>A</sup>	3046.9 <sup>A</sup>	105.1940 <sup>AB</sup>
9: U	31471 <sup>A</sup>	4140.6 <sup>A</sup>	104.3304 <sup>AB</sup>

A, B...medias con diferente literal en las columnas son estadísticamente diferentes ( $P \geq 0.005$ ). 1: T=testigo; 2: PZ+SK=prochloraz+sulfato de potasio; 3: PZ=prochloraz; 4: PZ+U=prochloraz+urea; 5: PL+SK=propiconazol+sulfato de potasio; 6: PL=propiconazol; 7: PL+U=propiconazol+urea; 8: SK=sulfato de potasio; 9: U=urea.

El área bajo la curva para los valores de cohorte de edad mostró diferencias en todas las variables estudiadas, la retención de acículas y el área foliar son mayores en la cohorte 2017, el IC es mayor en el follaje 2016. En el caso de los fertilizantes, la aplicación de urea disminuye la retención de acículas. Ambos fungicidas tienen un efecto mejor en comparación con el testigo en la retención del follaje. Los árboles en los diferentes grupos de transparencia de copa de la enfermedad fueron similares con respecto al IC, sin embargo, los árboles en el grupo de transparencia de copa baja retuvieron mayores cantidades de acículas y en general el follaje era más verde. Las ACR disminuyeron posiblemente porque los individuos con mayor cantidad de patógenos tenían ya menor cantidad de follaje y, por lo tanto, menos follaje que tirar. El IC no difirió significativamente entre los grupos de transparencia de copa, por lo tanto, las diferencias en las ACR se pueden atribuir a la tolerancia, no a la resistencia (Temel *et al.*, 2004) (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Comparación de medias de Tukey para los factores de variación en términos de las variables respuesta (ACR, IC y Afmed) utilizando el área bajo la curva.

Factor	Variable		
	ACR	IC	Afmed
<b>Cohorte de edad del follaje</b>			
2016	31941.5 <sup>B</sup>	7816.127 <sup>A</sup>	107.90 <sup>A</sup>
2017	37873.6 <sup>A</sup>	27.719 <sup>B</sup>	102.03 <sup>B</sup>
<b>Transparencia de copa</b>			
Bajo	37049.6 <sup>A</sup>	4009.6 <sup>A</sup>	113.1545 <sup>A</sup>
Medio	34815.9 <sup>AB</sup>	3804.5 <sup>A</sup>	109.8175 <sup>A</sup>
Alto	32857.2 <sup>B</sup>	3951.7 <sup>A</sup>	91.9235 <sup>B</sup>
<b>Fertilizantes</b>			
Urea	32451 <sup>B</sup>	3940.3 <sup>A</sup>	105.3441 <sup>AB</sup>
Sulfato de potasio	36035 <sup>A</sup>	3800.5 <sup>A</sup>	98.9041 <sup>B</sup>
Testigo	36237 <sup>A</sup>	4025.0 <sup>A</sup>	110.6473 <sup>A</sup>
<b>Fungicidas</b>			
Propiconazol	36541 <sup>A</sup>	4249.1 <sup>A</sup>	102.080 <sup>A</sup>
Prochloraz	34153 <sup>A</sup>	3713.8 <sup>A</sup>	105.514 <sup>A</sup>
Testigo	34029 <sup>A</sup>	3802.9 <sup>A</sup>	107.302 <sup>A</sup>

A, B...medias con diferente literal en las columnas son estadísticamente diferentes ( $P \geq 0.005$ ). **ACR**= Acículas retenidas totales; **IC**=Índice colonización del tizón suizo (Severidad promedio por cohorte\* Incidencia por cohorte\*100); **Afmed**= Área foliar media de una muestra de 30 acículas.

### 1.5.3 Efecto de la transparencia de copa

Un parámetro utilizado para clasificar rápidamente la salud del árbol es la transparencia de la copa (Metzger y Oren, 2001); además se considera un buen indicador de la tolerancia de los árboles al daño por el tizón suizo (Johnson, 2002; Zhao *et al.*, 2015). En cuanto al diámetro basal y su relación con el nivel de transparencia de copa, existen diferencias estadísticas ( $P=0.0347$ ), detectadas con el análisis de varianza. Se obtuvieron diferencias significativas para el área foliar media ( $P=<0.0001$ ) y la longitud de brote ( $P=<0.0001$ ). Para el diámetro basal, el nivel bajo es estadísticamente diferente al nivel alto de transparencia de copa; en el caso del área foliar y longitud de brotes, el nivel bajo y medio son estadísticamente iguales, pero difieren del nivel alto. De acuerdo con los resultados, a mayor transparencia de copa existe menor crecimiento en diámetro basal, área foliar y longitud de los brotes (Cuadro 6). Lo anterior concuerda con lo mencionado por Maguire *et al.* (2002), Johnson *et al.* (2003), Black *et al.* (2010), Kimberley *et al.* (2011), Cibrián *et al.* (2014) y Zhao *et al.* (2015). Los mecanismos que conducen a esta disminución del crecimiento incluyen la pérdida del área fotosintética y la alteración fisiológica del follaje sobreviviente (Weiskittel *et al.*, 2006).

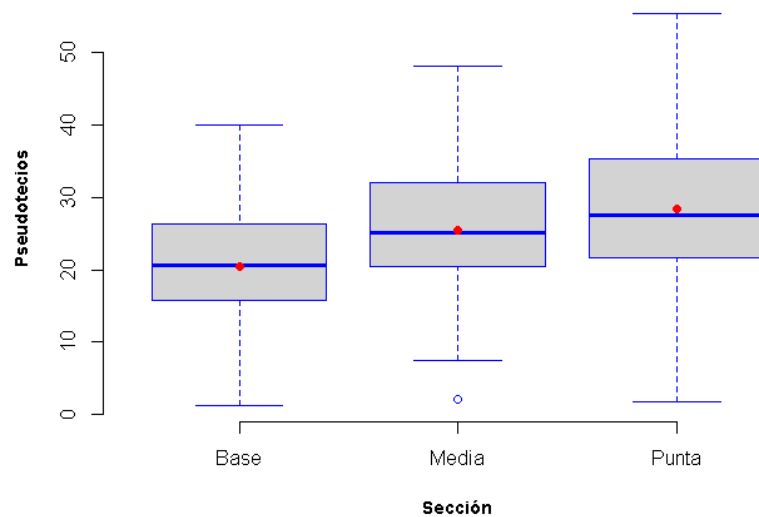
**Cuadro 6.** Efecto del nivel de transparencia de copa con el diámetro basal, área foliar y longitud de brote.

Variable	Transparencia de copa		
	Baja	Media	Alta
Diámetro basal	10.52 <sup>A</sup>	10.31 <sup>AB</sup>	9.37 <sup>B</sup>
Área foliar	0.327 <sup>A</sup>	0.322 <sup>A</sup>	0.284 <sup>B</sup>
Longitud de brote	9.258 <sup>A</sup>	8.710 <sup>A</sup>	7.863 <sup>B</sup>

A, B...medias con diferente literal en las filas son estadísticamente diferentes ( $P\geq 0.005$ ).

### 1.5.4 Estrato o sección de la acícula

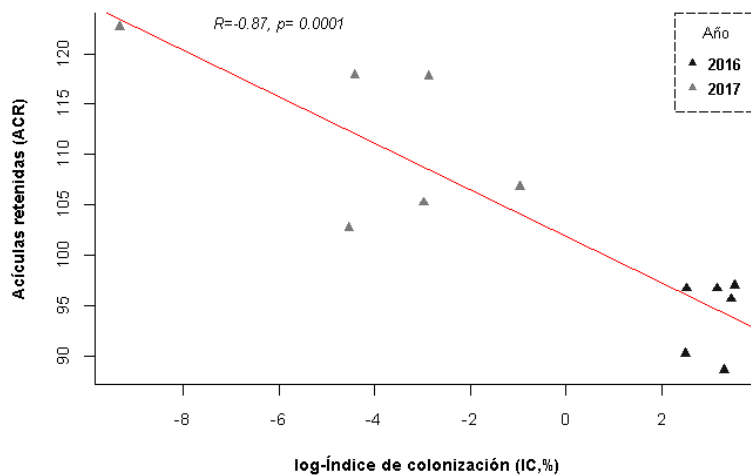
Por otra parte, existen diferencias significativas ( $P < 0.0001$ ) con respecto a la posición de la acícula donde se presentan los pseudotecios; se evaluó el promedio de pseudotecios en la cohorte 2016, ya que la cohorte 2017 presento pocos pseudotecios, se usó la prueba de Kruskal-Wallis dado que no se cumplía el supuesto de homocedasticidad y la comparación de medias de Tukey. El número de pseudotecios de la punta y la parte media de la acícula, son estadísticamente diferentes a los de la base, con una media de 28.33, 25.51 y 20.47, respectivamente (Figura 12). Esto puede estar asociado a la lluvia y la forma como se dispersan las ascosporas en el follaje de los árboles, que va de la punta a la base de las acículas, además la precipitación se considera un factor epidemiológico que influye en la incidencia y severidad de la enfermedad (Rosso y Hansen, 2003; Watt *et al.*, 2010; Cibrián *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2017).



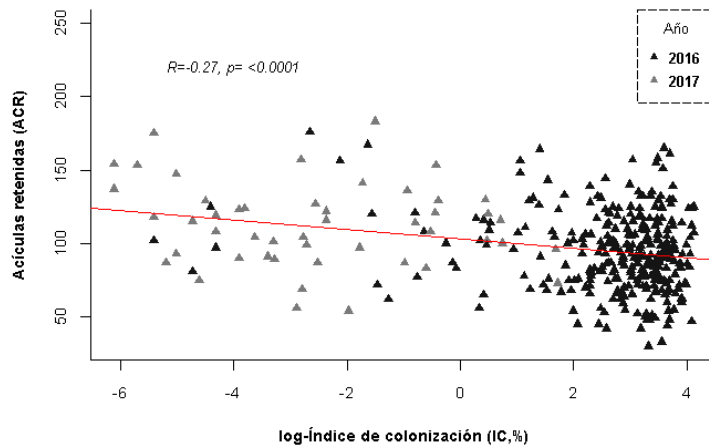
**Figura 12.** Número de pseudotecios en cada sección o estrato de la acícula.

### 1.5.5 Relación entre acículas retenidas y el índice de colonización

La relación entre ACR-log (IC) usando 12 pares de datos para cada cohorte de edad del follaje (i.e. promedio mensual), representó una correlación negativa ( $R=-0.87$ ), y estadísticamente significativa ( $P=0.0001$ ) (Figura 13), además considerando los 648 pares de datos, la relación ACR-log (IC) representó una correlación negativa pobre ( $R=-0.27$ ), pero estadísticamente significativa ( $P=<0.0001$ ) (Figura 14).



**Figura 13.** Relación entre las acículas retenidas y el logaritmo natural del índice de colonización con datos promedio por muestreo y la cohorte de edad del follaje.



**Figura 14.** Relación entre las acículas retenidas y el logaritmo natural del índice de colonización y la cohorte de edad del follaje con datos totales.

Las correlaciones lineales usando 12 pares de datos para cada cohorte de edad del follaje (i.e. promedio mensual), mostraron relaciones inversas proporcionales entre ACR-Sevmed ( $R=-0.74$ ) y ACR-Inc ( $R=-0.84$ ). Por otra parte, ACC-Sevmed ( $R=0.67$ ) y ACC-Inc ( $R=0.83$ ), tienen una relación directa proporcional. Lo anterior corrobora que la cantidad de pseudotecios en las acículas de *P. menziesii*, tienen alta correlación con la cantidad de acículas caídas (ACC) y con la cantidad de acículas retenidas (ACR) (Hansen *et al.*, 2000; Manter *et al.*, 2000; Manter *et al.*, 2003; Temel *et al.*, 2004).

## 1.6 Conclusiones

El análisis mixto o de medidas repetidas en el tiempo mostró diferencias significativas principalmente para los muestreos. El análisis del área bajo la curva mostró más información de los tratamientos aplicados. La retención de acículas fue favorecida principalmente por los tratamientos propiconazol y prochloraz con sulfato de potasio, pero desfavorecida por la interacción urea con prochloraz y el tratamiento con urea. Las



abscisiones estuvieron favorecidas por el tratamiento prochloraz con urea y el tratamiento que ayudó a evitar menos abscisiones fue propiconazol con sulfato de potasio. El sulfato de potasio tuvo influencia positiva en la retención de acículas. El índice de colonización aumentó con la aplicación de propiconazol con sulfato de potasio. El prochloraz con sulfato de potasio aumentó el área foliar.

El nivel de transparencia de copa disminuye gradualmente el número acículas retenidas y el área foliar. En cambio, la aplicación de urea aumentó la caída de acículas. El propiconazol tiene un efecto positivo al aumentar la retención de acículas. El modelo logístico se ajustó mejor a los datos de número de pseudotecios para todos los tratamientos, aunque no existen diferencias significativas entre las tasas relativas de incremento de la enfermedad.

La transparencia de copa, asociado a la cantidad de follaje retenido, afectó negativamente el crecimiento en diámetro basal, longitud del brote y área foliar. El desarrollo de los pseudotecios principalmente se acumula en la punta y parte media de cada acícula. Se demuestra que la cantidad de pseudotecios en las acículas de *P. menziesii* expresado como severidad, incidencia o el producto de ambos tienen una relación inversamente proporcional (i.e. una correlación negativa) con la retención del follaje.

## 1.7 Literatura citada

- 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.
- Berger, R. D. 1988. The analysis of effects of control measures on the development of epidemics. pp. 137-150. *In*: Kranz J., and J. Rotem. Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology. Springer-Verlag. Berlin, Germany. 299 p.
- Black, B. A., D. C. Shaw, and J. K. Stone. 2010. Impacts of Swiss needle cast on overstory Douglas-fir forests of the western Oregon Coast Range. *Forest Ecology and Management* 259:8 1673-1680.
- Boyce, J. S. 1940. A needle cast of Douglas-fir associated with *Adelopus gaeumannii*. *Phytopathology* 30:8 649-659.
- Campbell, C. L., and L. V. Madden. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley y Sons. 532 p.
- Castaños, M. L. J., y S. Castro Z. 2014. Manejo Forestal Reserva Forestal Multifuncional, "El Manantial S.C.": Conceptos, conductas y acciones. Zapopan, Jalisco: Comisión Nacional Forestal - Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. 221 p.
- Castillo, M. L.E. 2018. Área bajo la curva en fitosanidad. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. 107 p.
- 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 *Phaeocryptopus gaeumannii* Rhode Petrak en *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca* Beissn. Mayr. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 5:22 104-118.
- Cibrián, T. D., D. Alvarado R. y S. E. García D. 2007. Enfermedades Forestales en México/ Forest Diseases in Mexico. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR-

- SEMARNAT, México, Forest Service USDA, EUA, NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. México. 587 p.
- Cibrián T., D. 2009. Manual para la identificación de plagas y enfermedades en plantaciones de árboles de navidad. Comisión Nacional Forestal. CONACYT. UACH. 79 p.
- 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.
- Delgado, M. G., y S. Garnica Z. 2008. Informe de Evaluación para la Certificación del Manejo Forestal del Conjunto Predial "El Manantial". Forest Alliance.
- 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 Phytologist* 163:1 139-147.
- FAO-UNESCO. 1998. Revised legend of FAO-UNESCO soil map of the world. International Soil Reference and Information Centre. Roma: FAO.
- FSC. 2017. FSC List of 'highly hazardous' pesticides. FSC-STD-30-001a EN. 22 p.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (Quinta edición). México. Instituto de Geografía UNAM. 90 p.
- 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 Disease* 84:7 773-778.
- INEGI. 2007. Núcleos agrarios: Tabulados básicos por municipio. Programa de Certificación de Derechos Ejidales y titulación de Solares Puebla. PROCEDE.

- INEGI. 2017. Mapa Digital México V. 6.0. [En línea]. Disponible en: <http://gaia.inegi.org.mx> (revisado el 15 de marzo de 2017).
- Johnson, G. R. 2002. Genetic variation in tolerance of Douglas-fir to Swiss needle cast as assessed by symptom expression. *Silvae Genetica* 51: 2-3 80-88.
- Johnson, G. R., B. L. Gartner, D. Maguire, and A. Kanaskie. 2003. Influence of Bravo fungicide applications on wood density and moisture content of Swiss needle cast affected Douglas-fir trees. *Forest ecology and Management* 186:1-3 339-348.
- Kimberley, M. O., I. A. Hood, and R.L. Knowles. 2011. Impact of Swiss needle-cast on growth of Douglas-fir. *Phytopathology* 101:5 583-593.
- Kranz, J. 2003. Comparative epidemiology of plant diseases. Berlin: Springer. 206 p.
- Lee, E. H., P. A. Beedlow, R. S. Waschmann, D. T. Tingey, S. Cline, M. Bollman, C. Wickham, and C. Carlile. 2017. Regional patterns of increasing Swiss needle cast impacts on Douglas-fir growth with warming temperatures. *Ecology and Evolution* 7:24 11167-11196.
- Madden, L.V. 1986. Statistical analysis and comparison of diseases progress curves. pp. 55-84. *In*: Leonard, K.J. y Fry W.E. Plant disease epidemiology, vol. 1. Population Dynamics and Management. Macmillan, New York.
- Madden, L. V., G. Hughes, and F. Van Den Bosch, F. 2007. The study of plant disease epidemics. American Phytopathological Society. 421 p.
- Maguire, D. A., A. Kanaskie, W. Voelker, R. Johnson, and G. Johnson. 2002. Growth of young Douglas-fir plantations across a gradient in Swiss needle cast severity. *Western Journal of Applied Forestry* 17:2 86-95.
- Manter, D. K., L. M. Winton, G. M. Filip, and J. K. Stone. 2003. Assessment of Swiss needle cast disease: temporal and spatial investigations of fungal colonization and symptom severity. *Journal of Phytopathology* 151:6 344-351.

- Manter, D. K., R. G. Kelsey, and J. K. Stone. 2001. Quantification of *Phaeocryptopus gaeumannii* colonization in Douglas-fir needles by ergosterol analysis. *Forest Pathology* 31: 229-240.
- Manter, K. D., P. W. Reeser and J. K. Stone. 2005. A climate - based model for predicting geographic variation in Swiss needle cast severity in the Oregon Coast Range. *Phytopathology* 95:11 1256-1265.
- Mendoza-Campos, A., D. Cibrián-Tovar y V.D. Cibrián-Llenderal. 2011. Control del tizón suizo *Phaeocryptopus gaeumannii* en plantaciones de árboles de navidad del Estado de Puebla. p.183 *In: Memoria del XVI Simposio Nacional de Parasitología Forestal*. UAEM. Cuernavaca, Morelos. CONAFOR.
- Metzger, J. M., and R. Oren. 2001. The effect of crown dimensions on transparency and the assessment of tree health. *Ecological Applications* 11:6 1634-1640.
- Mulvey, R. L., D.C. Shaw, and D.A. Maguire. 2013. Fertilization impacts on Swiss needle cast disease severity in western Oregon. *Forest Ecology and Management* 287: 147-158.
- Mundt, C. C. 2009. Importance of autoinfection to the epidemiology of polycyclic foliar disease. *Phytopathology* 99:10 1116-1120.
- Osorio O., M. 2007. Detección del hongo defoliador *Phaeocryptopus gaeumannii* en plantaciones de *Pseudotsuga menziesii* de Valdivia, Chile. *Bosque* 28:1 69-74.
- Pedroza S., A. 2009. Análisis del área bajo la curva del progreso de enfermedades. pp. 179-189. *In: Bautista, M. N., L. Soto R. y R. Pérez P. Tópicos Selectos de Estadística Aplicados a la Fitosanidad*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México.
- Pedroza Sandoval, A., y M. López A. 1995. Respuesta al patosistema del frijol, usando diferentes variedades, tres dosis de fertilización fosfórica y dos sistemas de siembra. *Revista Mexicana de Fitopatología* 13: 117-122.

- R Core Team 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [En línea]. Disponible en: <https://www.R-project.org/>. (revisado el 20 de mayo de 2019).
- Rebollar-Alviter, A., G. Mora-Aguilera, y S. G. Leyva-Mir. 2003. Progreso temporal y control de la roya [*Pucciniastrum americanum* (Farl.) Arth.] de la Frambuesa roja (*Rubus idaeus* L.) en Valle de Bravo, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:3. 278-284.
- Ritóková, G., D. Shaw, G. Filip, A. Kanaskie, J. Browning, and D. Norlander. 2016. Swiss needle cast in western Oregon Douglas-fir plantations: 20-year monitoring results. *Forests* 7:8 155.
- Rosso, P. H., and E. M. Hansen. 2003. Predicting Swiss needle cast disease distribution and severity in young Douglas-fir plantations in coastal Oregon. *Phytopathology* 93:7 790-798.
- SAS Institute Inc. 2013. SAS System for Windows. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Shaner, G., and R. E. Finney. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67:8. 1051-1056.
- Simko, I., and H. P. Piepho. 2012. The area under the disease progress stairs: calculation, advantage, and application. *Phytopathology* 102:4 381-389.
- Stone, J. K., B.R. Capitano, and J.L. Kerrigan. 2008. The histopathology of *Phaeocryptopus gaeumannii* on Douglas-fir needles. *Mycologia* 100:3 431-444.
- 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*). *Forest Pathology* 34:6 383-394.

- Temel, F., Stone, J. K., and Johnson, G. R. 2003. First report of Swiss needle cast caused by *Phaeocryptopus gaeumannii* on Douglas-fir in Turkey. *Plant Disease* 87:12 1536-1536.
- Van Der Plank, J. E. 1963. *Plant diseases: Epidemics and control*. Academic Press. New York. 349 p.
- Velázquez-Mendoza, J., O.J. Salgado-Feregrino, M.D.J. Yáñez-Morales, y M. Jiménez-Casas. 2017. *In vitro* primer reporte del efecto de nutrimentos y del silicio en el crecimiento de *Phaeocryptopus gaeumannii*, un patógeno de *Pseudotsuga menziesii*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(1): 139-149.
- Watt, M. S., J. K. Stone, I. A. Hood, and D. J. Palmer. 2010. Predicting the severity of Swiss needle cast on Douglas-fir under current and future climate in New Zealand. *Forest Ecology and Management* 260:12 2232-2240.
- Weiskittel, A. R., D. A. Maguire, S. M. Garber, and A. Kanaskie. 2006. Influence of Swiss needle cast on foliage age-class structure and vertical foliage distribution in Douglas-fir plantations in north coastal Oregon. *Canadian Journal of Forest Research* 36:6 1497-1508.
- Wells, C., and L. Allen. 1985. *When and where to apply fertilizer: a loblolly pine management guide*. USDA Southeastern Forest Experiment Station. 23 p.
- Winton, L. M., D. K. Manter, J. K. Stone, and E. M. Hansen. 2003. Comparison of biochemical, molecular, and visual methods to quantify *Phaeocryptopus gaeumannii* in Douglas-Fir foliage. *Phytopathology* 93:1 121-126.
- Zhao, J., D. A. Maguire, D. B. Mainwaring, and A. Kanaskie. 2015. The effect of within-stand variation in Swiss needle cast intensity on Douglas-fir stand dynamics. *Forest Ecology and Management* 347: 75-82.

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

### 2.1 Resumen

Las plantaciones de árboles de navidad con *Pseudotsuga menziesii* ocupan actualmente 10 % de la superficie total de este tipo de plantaciones en México. El tizón suizo es una enfermedad propia de este género, originada por el hongo *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petrak. Los principales síntomas incluyen follaje clorótico y abscisión prematura de acículas infectadas que dan como resultado copas de árboles 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. El estudio se estableció en el predio “Reserva Forestal Multifuncional El Manantial” en Aquixtla, Puebla. Los tratamientos aplicados fueron fertilización con urea y sulfato de potasio y control fitosanitario químico con propiconazol y prochloraz. Se utilizó un diseño experimental factorial  $3^2$  con un arreglo en bloques al azar generalizado tomando como factor de confusión o bloqueo el nivel visual de transparencia de copa asociado al tizón suizo. Se evaluó la incidencia y severidad. Los resultados del análisis de varianza no indicaron diferencias estadísticamente significativas de ningún factor ni de la interacción entre ellos. De acuerdo con el análisis de correlación canónica de las variables nutrimentales del follaje, la primera resultó estadísticamente significativa y explica el 92 % de la variabilidad. Las variables nutrimentales más asociadas a la severidad e incidencia son el contenido de calcio y manganeso y en menor medida el cobre, magnesio y nitrógeno. Se observaron antagonismos y sinergismos entre los tratamientos aplicados, afectando el estado nutricional y la biomasa foliar, de acuerdo con los nomogramas de Timmer. Los fungicidas influyen en la absorción, transporte y asimilación de los nutrimentos.

**Palabras clave:** Douglas-fir, Árboles de navidad, Tizón, Correlación, Nutrición.



## 2.2 Abstract

Christmas tree plantations with *Pseudotsuga menziesii* currently occupy 10% of the total area of this type of plantation in Mexico. Swiss needle cast (SNC) is a disease associated to this genus, which is caused by the fungus *Phaeocryptopus gaeumannii*. The main symptoms include chlorotic foliage and premature abscission of infected needles that result in crown transparency tree. The objective of this study was to determine the relationship between chemical fertilization and the nutritional status of trees with the levels of severity and incidence of the disease. The study was established in “Reserva Multifuncional El Manantial” property in Aquixtla, Puebla. The applied treatments were fertilization with urea and potassium sulphate and chemical phytosanitary control with propiconazol and prochloraz. A 3<sup>2</sup> factorial experimental design with a generalized randomized block arrangement was used, taking as a confounding or blocking factor the visual level of crown transparency associated with SNC. The incidence and severity were evaluated. The results of the analysis of variance did not indicate statistically significant differences. According to the canonical correlation analysis of the nutritional variables of the foliage, the first one was statistically significant and explains 92% of the variability. The nutrient variables most associated with severity and incidence are calcium and manganese content and to a lesser extent copper, magnesium and nitrogen. Antagonisms and synergisms were observed between the treatments applied, affecting the nutritional status and leaf biomass, according to the Timmer nomograms. Fungicides influence the absorption, transport and assimilation of nutrients.

**Key words:** Douglas-fir, Christmas trees, Needle cast, Correlation, Nutrition.

## 2.3 Introducción

El abeto de Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco), forma parte de la vegetación forestal de México, con una distribución geográfica natural desde Sonora hasta Oaxaca (Domínguez, 2015). Los árboles de navidad son utilizados desde el siglo XVII en Europa (Alemania). La tradición con el tiempo se extendió a Inglaterra y posteriormente a EUA (Hansen y Lewis, 2003). Las especies típicas que se cultivan en México como árboles de navidad son *Pinus ayacahuite*, *Pseudotsuga menziesii*, *Pinus cembroides*, *Pinus gregii*, *Abies religiosa*, *Picea* sp., *Cupressus lindleyii*, *Chamaecyparis* sp. y *Thuja* sp. (CONAFOR, 2017). El género *Pseudotsuga* en México tiene 10 % de la superficie establecida de plantaciones de árboles de navidad en el período 2013-2017 (CONAFOR, 2017). El tizón suizo es una enfermedad propia del género *Pseudotsuga*, la cual es originada por el hongo *Phaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) Petrak, actualmente nombrado como *Nothophaeocryptopus gaeumannii* (T. Rohde) (Ascomycota: Mycosphaerellaceae) (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*, se ve afectado cuando emergen los pseudotecios de los estomas, propiciando 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 de árboles 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). Por otra parte, la severidad e incidencia de la enfermedad y una retención menor de follaje parece ser mayor en los árboles más jóvenes (Yung-Hsiang *et al.*, 2019b).

En México se localizan cepas locales de *P. gaeumannii* como 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 del centro del país en 11 estados (Cibrián *et al.*, 2014). En la actualidad este patógeno se ha expandido a varias regiones donde *Pseudotsuga* spp. es una especie introducida,

principalmente en países del hemisferio sur (Argentina, Chile, Nueva Zelanda), Asia occidental (Turquía) y varios países de Europa, por lo que constituye un problema fitosanitario en el cultivo de árboles de navidad y bosques naturales (Temel *et al.*, 2003; Osorio, 2007; Morales *et al.*, 2012; Castaño *et al.*, 2014).

La fertilización no solo tiene efectos en el crecimiento y productividad; al mejorar el estado nutrimental de los árboles, estos adquieren mayor resistencia o tolerancia a plagas (López - López y Estañol - Botello, 2007; Binkley y Fisher, 2013; Pérez - Camacho *et al.*, 2013; Calixto *et al.*, 2015; Montero-Solís *et al.*, 2017). 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; sin embargo, ningún nutriente individualmente puede controlar todas las enfermedades o favorecer el control de enfermedades para algún grupo de plantas (Huber y Graham, 1999).

Dependiendo del nutriente, el estado nutrimental de la planta, 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 del N, P y K en la incidencia y severidad de enfermedades son reportados más frecuentemente que los efectos de micronutrientes (Huber y Graham, 1999). Algunos autores señalan que el exceso de nitrógeno incrementa la severidad del tizón suizo (El-Hajj *et al.*, 2004), pero en balance con fósforo no la incrementa, aunque en general, no queda claro el efecto de la fertilización sobre esta enfermedad (Mulvey *et al.*, 2013). En un estudio realizado en EUA para evaluar las asociaciones entre la severidad del tizón suizo y las concentraciones nutrimentales foliares de *P. menziesii*, la severidad mostró tendencias positivas con N, Na, K y S, y tendencias ligeramente negativas con P y Mn (Yung-Hsiang *et al.*, 2019a).

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar morfológicamente al tizón suizo, así como identificar la relación de la fertilización química y el estado nutrimental de los árboles con los niveles de severidad e incidencia (i.e. grado de infestación o intensidad) en una plantación de *P. menziesii* de siete años.

## **2.4 Materiales y métodos**

### **2.4.1 Identificación morfológica**

La identificación de *Phaeocryptopus gaeumannii* se realizó mediante las características de morfología de los pseudotecios. Se realizaron únicamente mediciones de los pseudotecios debido a que durante el experimento siempre se encontraron inmaduros. Se tomaron fotografías en un microscopio estereoscópico Leica® ZOOM 2000 a 45X. Las imágenes fueron procesadas con el programa IMAGE-J 1.48 estableciendo una medida de referencia para realizar mediciones de los pseudotecios (n=130).

### **2.4.2 Sitio y establecimiento experimental**

La “Reserva Forestal El Manantial” S. C. (RFM) se ubica en la región de la “Sierra Norte” del estado de Puebla, entre los municipios de Aquixtla e Ixtacamaxitlán. El área de estudio se encuentra en el paraje “Sierra Mojada” con una altitud media de 3000 msnm en las siguientes coordenadas geográficas: 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. En noviembre de 2017 se estableció un ensayo de campo con un diseño experimental factorial 3<sup>2</sup> con un arreglo en bloques al azar generalizado con dos repeticiones por bloque, tomando como factor de confusión el nivel visual de transparencia de copa asociado al tizón suizo. El primer factor incluyó tres niveles de fertilización (urea, sulfato de potasio y control) y el segundo incluyó tres niveles de aplicación de fungicidas químicos (propiconazol, prochloraz y control). Se marcaron los bloques con listones de diferente color (i.e. verde=bajo, naranja=medio, rojo=alto).

En total cada tratamiento tuvo seis repeticiones, considerando 54 unidades experimentales. Las unidades experimentales seleccionadas fueron aleatorizadas en R 3.5.2 (R Core Team, 2018) en el paquete agricolae, con la función design.ab. La evaluación se realizó en mayo de 2018.

### **2.4.3 Tratamientos**

Se recolectaron las ramillas con acículas de la cohorte 2017 mediante un muestreo sistemático en zig-zag, colectando cinco submuestras y para el análisis de suelo tres submuestras, repartidas en cuatro transectos. Se utilizó una muestra compuesta por cada transecto en ambos casos. Las muestras foliares se tomaron de la parte media de la ramilla, totalmente maduras, no senescentes, localizadas en el tercio superior de la copa de los árboles (Wells y Allen, 1985) en agosto de 2017. Las muestras fueron lavadas con agua potable y luego con agua destilada; fueron colocadas en bolsas de papel estraza y secadas en una estufa de circulación forzada marca FELISA, a 70 °C por 72 h y finalmente fueron molidas en un mortero. Posteriormente se enviaron al laboratorio Salvador Alcalde Blanco del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, para determinar macronutrientes (i.e. N, P, K, Ca, Mg) y micronutrientes (i.e. Cu, Mn, B, Fe, Zn), además de las propiedades fisicoquímicas del suelo (i.e. pH, CE, CIC). Las concentraciones nutrimentales foliares se interpretaron mediante las concentraciones críticas de Ballard y Carter (1986) para *Pseudotsuga menziesii*. Con base en los análisis foliares se definió los tratamientos de fertilización a aplicar, determinándose que el nitrógeno y el potasio son deficientes en el follaje. Además, el análisis de suelo mostró baja concentración de potasio (Cuadro 7).

**Cuadro 7.** Resultados del análisis de suelo y diagnóstico con base en la NOM-021-RECNAT-2000 y Castellanos *et al.* (2000).

<b>Variable</b>	<b>Valor</b>	<b>Diagnóstico</b>
pH	5.515	Moderadamente ácido
CE (dS m <sup>-1</sup> )	0.190	Libre de sales
m. o. (%)	18.120	Muy alto
CIC (cmol kg <sup>-1</sup> )	42.920	Muy alta
N (%)	0.754	Muy alto
P (ppm)	2.734	Bajo, Muy Bajo
Ca (ppm)	2930.000	Elevado, Moderadamente alto
Mg (ppm)	553.500	Elevado, Moderadamente alto
K (ppm)	80.521	Bajo, Muy bajo
Fe (ppm)	33.000	Adecuado, Alto
Cu (ppm)	0.695	Adecuado, Moderadamente bajo
Zn (ppm)	1.429	Adecuado, Medio
Mn (ppm)	5.497	Adecuado, Moderadamente bajo

**pH**= potencial hidrógeno; **CE**=conductividad eléctrica; **CIC**= capacidad de intercambio catiónico.

#### 2.4.3.1 Dosis de fertilización

El cálculo de las dosis de fertilización se hizo con base al modelo racional o modelo demanda-suministro, adaptado para concentraciones foliares: Dosis = (demanda del cultivo – suministro del suelo) /eficiencia de recuperación del fertilizante (Álvarez *et al.*, 1999; Etchevers, 1999; Opazo *et al.*, 2008; Hernández *et al.*, 2018). La dosis de los macronutrientes y micronutrientes se calculó considerando 1 kg de biomasa foliar y 40% de eficiencia de la fertilización para el caso de los micronutrientes, utilizando la concentración crítica de boro. Se emplearon los materiales fertilizantes inorgánicos: urea, sulfato de potasio, y de manera secundaria ácido fosfórico y el producto comercial Sagaquel Combi®; las dosis de urea, ácido fosfórico y sulfato de potasio se calcularon considerando 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 8); todas las unidades experimentales recibieron una dosis de 5 g de ácido fosfórico y una dosis de 15 g del producto Sagaquel combi®.

### 2.4.3.2 Dosis de fungicidas

Se seleccionaron dos fungicidas que no se encontraran en la lista de plaguicidas altamente peligrosos de la FSC 2017 (Forest Stewardship Council: Consejo de Administración Forestal). Se evaluó el efecto de Tilt® (propiconazol) y Sportak® (prochloraz). Las dosis de fungicidas fueron de 1 mL de producto comercial + 2 mL del producto adherente Dap-plus® por cada L de agua en cada unidad experimental (i.e. árbol) (Cuadro 8). La aplicación de los fungicidas se realizó a la copa de los árboles con una mochila aspersora manual de la marca SWISSMEX®. Se realizaron dos aplicaciones de los productos fungicidas en noviembre y diciembre de 2017.

**Cuadro 8.** Tratamientos de fungicidas y fertilizantes aplicados en el experimento.

Tratamiento	Factores			
	Propiconazol	Prochloraz	Urea	Sulfato de potasio
1: T	0	0	0	0
2: PZ+SK	0	1 mL L <sup>-1</sup>	0	80 g
3: PZ	0	1 mL L <sup>-1</sup>	0	0
4: PZ+U	0	1 mL L <sup>-1</sup>	10 g	0
5: PL+SK	1 mL L <sup>-1</sup>	0	0	80 g
6: PL	1 mL L <sup>-1</sup>	0	0	0
7: PL+U	1 mL L <sup>-1</sup>	0	10 g	0
8: SK	0	0	0	80 g
9: U	0	0	10 g	0

1: T=testigo; 2: PZ+SK=prochloraz+sulfato de potasio; 3: PZ=prochloraz; 4: PZ+U=prochloraz+urea; 5: PL+SK=propiconazol+sulfato de potasio; 6: PL=propiconazol; 7: PL+U=propiconazol+urea; 8: SK=sulfato de potasio; 9: U=urea.

### 2.4.4 Muestreo de foliar y análisis nutrimental

En mayo de 2018, se tomó una muestra compuesta de 100 acículas de la cohorte de edad 2017 para cada una de las unidades experimentales de acuerdo con la metodología de (Wells y Allen, 1985), tomando su peso seco con una balanza analítica Ohaus Serie Adventurer™ Pro; después las muestras fueron lavadas, colocadas en bolsas de papel estraza y secadas en una estufa a 70 °C por 72 h y finalmente fueron molidas en un mortero. Se decidió homogenizar cada una de las muestras de acuerdo con su

tratamiento y su bloque, por lo que se envió al laboratorio 27 muestras para determinar macronutrientes (i.e. N, P, K, Ca, Mg) y micronutrientes (i.e. Cu, Mn, B, Fe, Zn). Con los resultados se evaluó el contenido nutrimental foliar (i.e. concentración\*peso seco de 100 acículas /100) obtenidos del análisis de laboratorio.

#### **2.4.5 Evaluación de la incidencia y severidad**

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

En total se revisaron 300 estomas por acícula. 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.

#### **2.4.6 Análisis estadístico**

El análisis estadístico consta de un análisis de varianza (ANDEVA), una matriz de correlaciones y un análisis de correlaciones canónicas entre los grupos de variables de contenido nutrimental del follaje (i.e. concentración\*peso seco de 100 acículas /100) y los niveles de incidencia y severidad de la enfermedad; Se utilizaron ambas cohortes de edad del follaje en su conjunto (i.e. 2016 y 2017) para representar las dos variables de



la intensidad del tizón suizo y siete variables para el estado nutrimental de los árboles (Cuadro 9).

Se utilizó el análisis de vectores (Timmer y Stone, 1978) para interpretar el análisis foliar al final del experimento. Los análisis se realizaron en R 3.5.2 (R Core Team, 2018) y SAS® 9.4 con PROC CANCORR (SAS Institute Inc., 2013).

**Cuadro 9.** Grupos de variables asociadas mediante el análisis de correlaciones canónicas.

<b>VARIABLES ASOCIADAS AL TIZÓN</b>	<b>VARIABLES NUTRIMENTALES</b>
Severidad (Y1)	Nitrógeno (X1)
Incidencia (Y2)	Potasio (X2)
	Calcio (X3)
	Magnesio (X4)
	Cobre (X5)
	Manganeso (X6)
	Boro (X7)

## 2.5 Resultados y discusión

### 2.5.1 Identificación morfológica

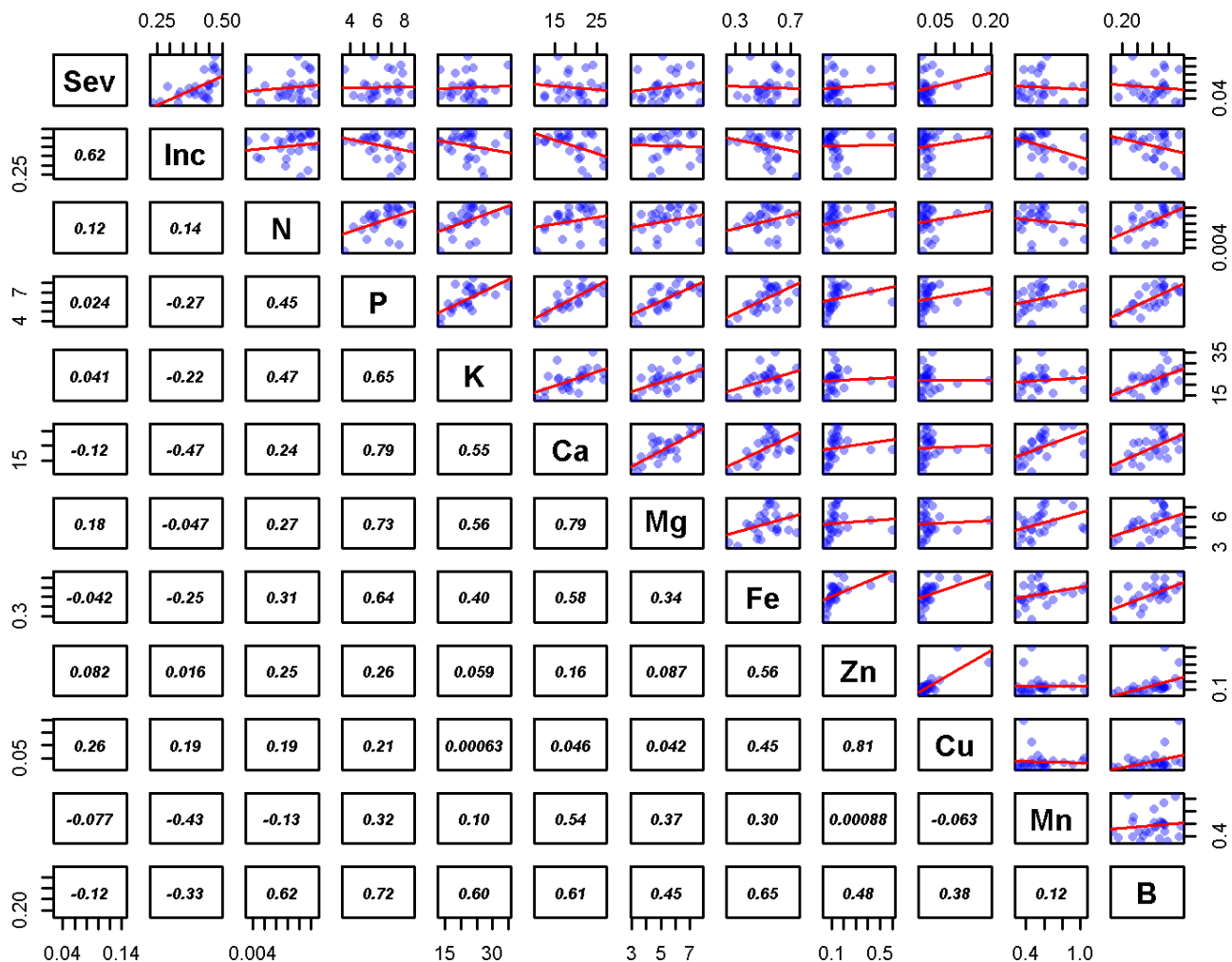
Se determinó como el agente del tizón suizo a *Phaeocryptopus gaeumannii* mediante la morfología de los pseudotecios y la sintomatología de las acículas de *Pseudotsuga menziesii*. Se corrobora lo mencionado por Hansen *et al.* (2000), Osorio (2007), Stone *et al.* (2008) y Cibrián *et al.* (2014); Los pseudotecios miden (43-) 55 (-72)  $\mu\text{m}$  de diámetro.

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

Para el análisis se realizaron transformaciones para normalizar las variables N, Mn, Cu con la transformación de Box-Cox y 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, siguiendo las recomendaciones de Badii y Castillo (2017) y Herrera *et al.* (2010).

El ANDEVA no mostró diferencias estadísticamente significativas para las variables incidencia y severidad. El análisis de correlaciones entre las variables originales muestra que las mayores relaciones lineales estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) son entre el Ca-incidencia ( $R=-0.47$ ), Mn-Incidencia ( $R=-0.43$ ) e Incidencia-Severidad ( $R=0.61$ ) (Figura 15). La concentración de N está medianamente relacionada con la incidencia del tizón ( $R=0.42$ ) (El-Hajj *et al.*, 2004). La relación entre incidencia y severidad de la enfermedad forma un concepto valioso, ya que cualquier relación cuantificable entre ellas permitiría estimar la severidad según los valores de incidencia (Campbell y Madden, 1990; McRoberts *et al.*, 2003).



**Figura 15.** Matriz de diagramas de dispersión-correlación del contenido nutricional foliar y la infestación del tizón suizo.

La primera correlación canónica resultó estadísticamente significativa ( $P=0.01$ ), con  $R=0.84$  y explica el 92 % de la variabilidad (Cuadro 10); la segunda variable canónica resultó no significativa ( $P=0.71$ ), con un  $R=0.41$ , explicando el 8 % de la variación total.

**Cuadro 10.** Análisis de correlación canónica y valores característicos.

Var. canónica	CCC (R)	CCCC (R <sup>2</sup> )	Valor característico	Proporción (%)
X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7/Y1-Y2	0.84	0.70	2.33	0.92

**CCC:** Coeficiente de correlación canónica, **CCCC:** Coeficiente de correlación canónica cuadrada.

Con relación a los estadísticos multivariados y las aproximaciones de F, resultaron estadísticamente significativos para la primera correlación canónica (Cuadro 11).

**Cuadro 11.** Estadísticos multivariados para la primera correlación canónica.

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

**Significancia estadística:** \*\*\*\* P < 0.0001, \*\*\* P<0.001, \*\*P < 0.01, \*P< 0.05.

La correlación entre las variables originales y canónicas muestra que la variable canónica del tizón (VCT) está más correlacionada con la incidencia que con la severidad, y el contenido nutrimental de Calcio (Ca) y Manganeso (Mn), esta última de manera negativa (Cuadro 12). La variable canónica de los nutrimentos se correlaciona más con la incidencia, y está más influenciada por el Ca y Mn y menos influenciada por el Cu, Mg y N. Al aumentar la variable canónica de los nutrimentos (VCN), aumenta el contenido foliar de Ca y B, pero disminuye la de Mn.

**Cuadro 12.** Correlaciones entre las variables originales y variables canónicas.

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>

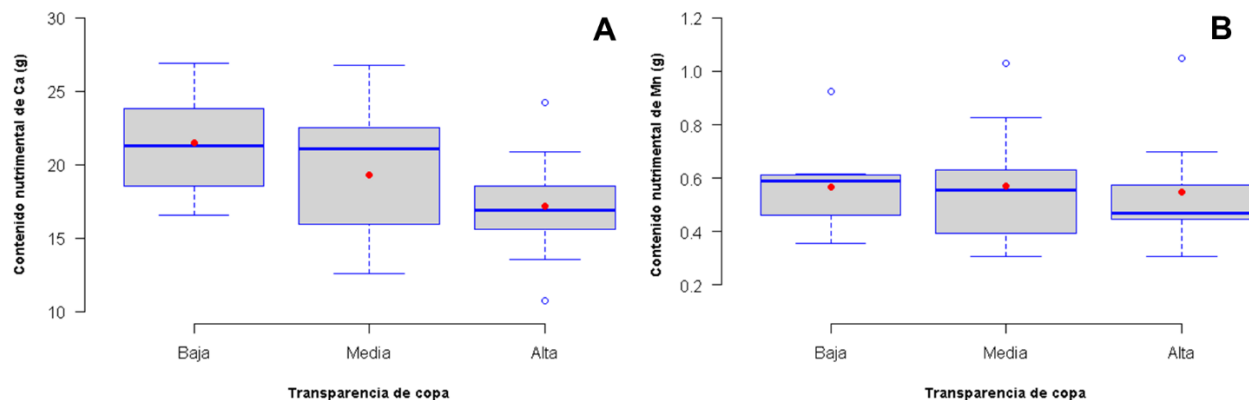
**VCT:** variable canónica asociada al tizón suizo; **VCN:** variable canónica asociada al contenido nutrimental foliar.

En el caso de Mn, al aumentar VCN disminuye Mn; es decir, las menor concentración foliare de Mn se relaciona con mayor incidencia y severidad. La influencia del Ca sobre la incidencia puede estar afectada por el ácido abscísico, donde el Ca 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 “cerrados los estomas”. Los patógenos pueden generar desórdenes relacionados con los niveles de las hormonas vegetales, produciendo crecimiento anormal, redireccionamiento de nutrimentos, atrofia, clorosis/necrosis, epinastia y abscisión de órganos (Strange, 2006). Además, las plantas deficientes en potasio (K) tienen una regulación estomática deficiente, por lo que puede haber mayor colonización de patógenos que aprovechan esta vía de entrada a las plantas (Zörb *et al.*, 2014); La deficiencia de potasio aumenta la susceptibilidad de las plantas hospederas a los parásitos obligados y facultativos (Huber *et al.*, 2012).

Hay diversos estudios sobre los efectos de N y K en la inducción de resistencia a enfermedades vegetales; sin embargo, los resultados para N pueden ser inconsistentes, y en algunos casos controvertidos, por varias razones: no se establece claramente si el suministro de estos nutrimentos es bajo, óptimo o excesivo, el efecto depende de la fuente de N suministrado (i.e. amonio o nitrato) o no se consideran las diferencias en los patrones de infección entre parásitos obligados y facultativos (Huber *et al.*, 2012). Amtmann *et al.* (2008) realizaron una compilación donde la aplicación de fertilizantes potásicos disminuye la incidencia de enfermedades en la mayoría de los casos, pero en otras ocasiones no se tuvo ningún efecto e inclusive un efecto contrario.

Por otra parte, las enfermedades bióticas pueden provocar una interrupción grave de la absorción y la translocación de nutrimentos, pero también puede haber una modificación en las concentraciones nutrimentales en los tejidos vegetales (Walters, 2015). Una enfermedad en la que podría esperarse que se encuentre un aumento en los niveles de ABA es el amarillamiento letal del cocotero, que es una enfermedad causada por fitoplasmas, que conduce al cierre permanente de los estomas, y esto provoca una disminución de la fotosíntesis, clorosis de las hojas y, en el peor de los casos, la muerte de las plantas (Walters, 2015).

En los diagramas de cajas, se observa la relación que existe con el nivel de transparencia de la copa, donde los árboles con mayor nivel de raleo tienen un contenido foliar menor en comparación con los niveles de transparencia medio y bajo, el efecto es más notorio con el contenido de Ca (Figura 16). El Ca probablemente tuvo un efecto supresivo contra la caída de follaje, misma que en el sitio está relacionada con la presencia del tizón suizo y la densidad de la copa es un buen indicador de la tolerancia a esta enfermedad (Johnson, 2002; Maguire *et al.*, 2002; Temel *et al.*, 2004). En este caso el Ca se asocia con los niveles de transparencia de copa.



**Figura 16.** Contenido foliar de A) Ca y B) Mn para cada nivel de transparencia de copa en *P. menziesii*.

El Mn en general influye positivamente 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 sobre el desarrollo de la resistencia/tolerancia a enfermedades foliares y de raíz (Graham y Webb, 1991). El Mn es importante en la síntesis de clorofila y se encuentra involucrado en la activación de enzimas (i.e. descarboxilasas y deshidrogenasas) (Núñez, 2013). Forma parte de los metales pesados, junto con el Fe, Mo, Ni, Cu, Co y Zn, y su función fisiológica es formar quelatos e incorporarse en grupos prostéticos de enzimas, participando en el transporte de electrones (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 ella, como flavonoides, fitoalexinas y los precursores de la lignina e inclusive forma parte del ingrediente activo de algunos fungicidas (Römheld y Marschner, 1991; Krauss, 1999; Dordas, 2008). También inhibe compuestos fitotóxicos solubles, y la actividad de enzimas como aminopeptidasas y pectinesterasas (Krauss, 1999). Por otra parte, Velázquez-Mendoza *et al.* (2017) reportan el efecto inhibitorio *in vitro* de Mn, junto con Cu y Zn sobre una cepa de *P. gaeumannii* en México.

La aplicación de nutrimentos como Mn, Cu y B activa los mecanismos SAR (i.e. systemic acquired resistance: resistencia sistémica adquirida) al liberar 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 (i.e. relación inversamente proporcional) (Thompson y Huber, 2007). Otra visión de la correlación negativa de la concentración de Mn en la planta y el daño de la enfermedad es el hecho de que un conjunto de factores ambientales que agravan la severidad de varias enfermedades fúngicas también disminuye la disponibilidad de Mn en el suelo (Thompson y Huber, 2007). Se han propuesto varios mecanismos para el papel de Mn en la resistencia a enfermedades, como la lignificación, la síntesis de fenoles solubles, la inhibición de aminopeptidasas, la fotosíntesis la cual está severamente inhibida por la deficiencia de Mn, y la inhibición directa de patógenos, ya que los patógenos lo requieren en menor cantidad (Graham y Webb, 1991).

El Ca forma parte de los metales alcalinos y alcalinotérreos, funcionando como mensajero secundario y es importante en la división celular y en la estabilidad de la membrana y pared celular (Núñez, 2013). Cuando hay una invasión de patógenos, inmediatamente hay un cambio en el potencial de membrana y un aumento en la concentración de Ca en el citoplasma que actúa como un segundo mensajero, por lo que 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 (i.e. azúcares) del citoplasma hacia el apoplasto, donde estos compuestos pueden estar disponibles para el uso de patógenos; además, la actividad de enzimas (i.e. poligalacturonasas) es inhibida por el Ca (Huber *et al.*, 2012).



De acuerdo con Huber *et al.* (2012), el aumentar la concentración de K no conduce a un aumento en la infección o intensidad de una enfermedad o viceversa; siempre que la concentración de Ca sea alta, se debe de mantener la razón K/Ca cercana a uno para minimizar los daños. Zielińska y Michniewicz (2001) concluyen que la influencia inhibitoria del calcio en plántulas de trigo infectadas por *Fusarium culmorum* puede deberse a la influencia de este catión en el equilibrio del ácido abscísico y etileno en la planta. Ton *et al.* (2009) y Cao *et al.* (2011) mencionan que el ácido abscísico (ABA) también tiene un papel destacado en el estrés biótico, aunque actúa como un regulador negativo de la resistencia/tolerancia a enfermedades. Esta hormona se encuentra involucrada en una red complicada de interacciones sinérgicas y antagonistas. Se ha reconocido durante muchos años que la conductancia estomática está influenciada por los iones de calcio; además, la acción del ácido abscísico en las células guarda, depende del calcio (Atkinson *et al.*, 1990; MacRobbie, 1992).

### **2.5.3 Análisis nutrimental y gráfico de vectores**

Comparando los valores iniciales con los finales, con base en las concentraciones críticas de Ballard y Carter (1986) se muestra un aumento en las concentraciones de los nutrimentos aplicados (i.e. N y K). En el caso del tratamiento con el fertilizante nitrogenado (urea) se sobrepasó la concentración crítica, y el de sulfato de potasio la aumentó considerablemente. En general, se observa un efecto antagónico entre los fertilizantes y los fungicidas (Cuadro 13).

**Cuadro 13.** Diagnóstico de acuerdo con las concentraciones críticas de Ballard y Carter (1986).

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

S: suficiente; A: adecuado; D: deficiente.

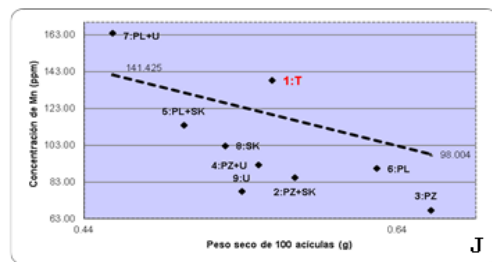
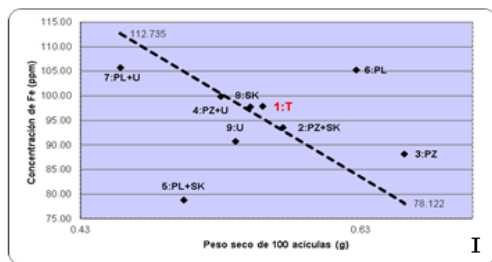
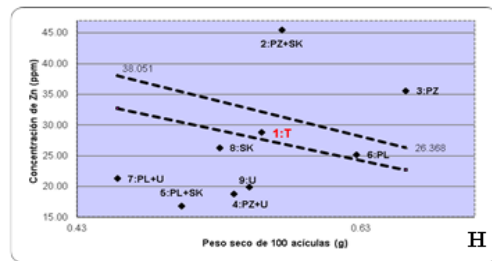
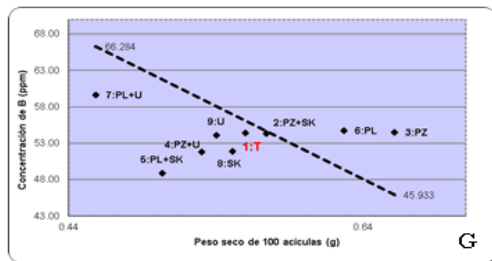
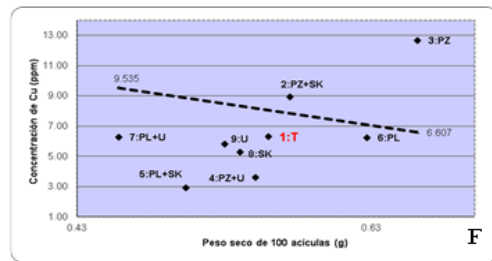
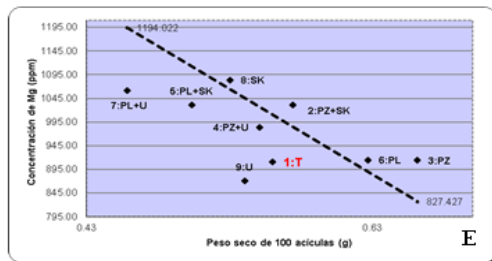
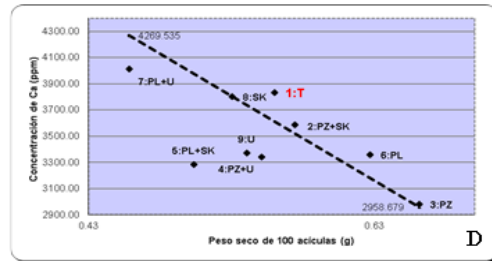
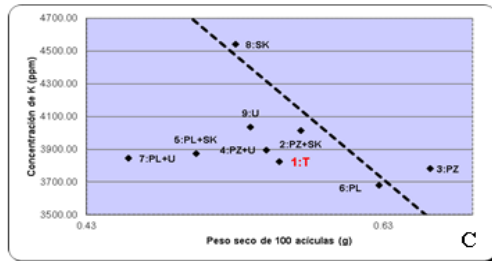
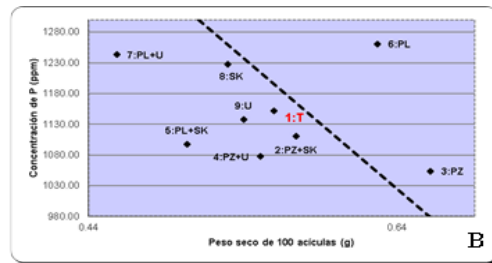
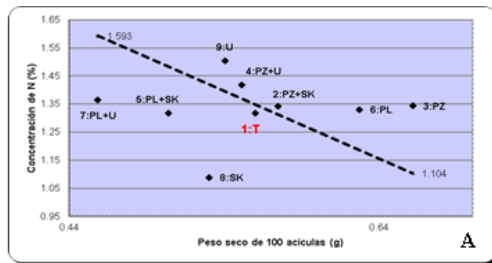
De acuerdo con el análisis gráfico de vectores, sólo uno de los tratamientos permitió alcanzar la concentración crítica de N indicada por Ballard y Carter (1986). Este tratamiento incluyó la aplicación de urea. Por otro lado, la mayoría de los tratamientos (5 de 8) mejoraron la absorción de N en el tejido vegetal, con respecto al testigo; pero al menos tres tratamientos disminuyeron la absorción de N (PL+U, PL+SK y SK), observándose el reconocido antagonismo entre N y K. Los tratamientos que más promovieron la acumulación de biomasa foliar fueron los que incluyeron únicamente los fungicidas, especialmente prochloraz (Figura 17A).

Todos los tratamientos resultaron deficientes en P al final del experimento. En los casos de aplicación de U, PL + SK y PZ + U, se trata de antagonismo entre el P y los mencionados tratamientos, pero la aplicación de fungicidas aumentó la biomasa de las acículas. La deficiencia de potasio en los árboles no se pudo corregir aún con la aplicación de ese nutrimento (Figura 17B).

Todos los tratamientos son deficientes en K al final del experimento, dado que no alcanzan la concentración crítica de este nutrimento (0.8 ppm) según Ballard y Carter (1986). Esto significa que la dosis aplicada de K no fue suficiente para subsanar la

deficiencia del nutrimento, misma que fue muy aguda. Además, tanto la adición de urea como de fungicidas, hizo disminuir la absorción de potasio (Figura 17C). La concentración foliar de Ca en todos los tratamientos fue superior a la concentración crítica de Ca (0.25 ppm). En este caso, todos los tratamientos promovieron una disminución de la absorción de Ca (Figura 17D). Al final del experimento, todos los tratamientos mostraron deficiencia de Mg, con concentración menor a la concentración crítica (Ballard y Carter, 1986). No obstante, la mayoría de los tratamientos fomentó la absorción de este nutrimento (Figura 17E).

Para los micronutrientes, el tratamiento de prochloraz ocasionó tiene una concentración mayor de Cu con respecto a los demás tratamientos (Figura 17F). Los tratamientos con sulfato de potasio disminuyeron la concentración de B (Figura 17G). El fungicida prochloraz ocasionó la mayor biomasa foliar y una concentración alta de Zn; además, se muestra cierto antagonismo de la urea con el Zn (Figura 17H). El propiconazol ocasionó la mayor concentración de Fe (Figura 17I). Todos los tratamientos redujeron la concentración de Mn con respecto al testigo (Figura 17J).



**Tratamientos:** 1: T=testigo; 2: PZ+SK=prochloraz+sulfato de potasio; 3: PZ=prochloraz; 4: PZ+U=prochloraz+urea; 5: PL+SK=propiconazol+sulfato de potasio; 6: PL=propiconazol; 7: PL+U=propiconazol+urea; 8: SK=sulfato de potasio; 9: U=urea.

**Figura 17.** Nomogramas para los macronutrientes y micronutrientes con datos finales del experimento con la aplicación de fertilizantes en mayo de 2018 de una plantación de árboles de navidad en Aquixtla, Puebla.

Cuando los plaguicidas se combinan con fertilizantes, aditivos u otros plaguicidas, puede causar interacciones químicas, como sinergismo, aditividad y antagonismo (Cereza *et al.*, 2019; Rouhani y Samih, 2013). La mezcla debe realizarse con cuidado para evitar antagonismos que interfieran con la eficacia de varios componentes o sinergismos que puedan causar daños en los cultivos (Gooding *et al.* 1991; Minbashi *et al.* 2006). De acuerdo con Badar y Qureshi (2014) la combinación de *Trichoderma hamatum* con algunos aislamientos de rizobios y fertilizantes químicos fueron efectivos para mejorar la longitud de brotes y raíces, clorofila total, carbohidratos, proteínas crudas y contenido mineral de *Brassica nigra*. En el contexto agronómico parece adecuado agregar fuentes de nitrógeno para contribuir al control biológico de *Sclerotium rolfsii* (Khattabi *et al.*, 2004).

En un experimento desarrollado por Padhy *et al.* (2014) los fertilizantes químicos mezclados con insecticidas fueron antagonistas para *Cylindrospermum* sp. *in vitro*. La aplicación de fertilizantes y fungicidas pueden tener efectos dependiendo de la variedad del cultivo, por ejemplo, en el tizón tardío en papa (Rosana *et al.*, 2017).

## **2.6 Conclusiones**

No se observó una diferencia estadísticamente significativa en los tratamientos aplicados sobre la incidencia y severidad del tizón suizo. La primera correlación canónica resultó estadísticamente significativa y explica el 92 % de la variabilidad. La concentración foliar de nitrógeno mostró una relación directamente proporcional con la incidencia del tizón. Las variables nutrimentales asociadas a la severidad e incidencia son el contenido de calcio y manganeso, principalmente. El contenido de magnesio, cobre y nitrógeno se correlacionaron en menor medida. Se observaron antagonismos y sinergismos entre los tratamientos aplicados y su efecto en la concentración, contenido y biomasa foliar. De acuerdo con los nomogramas los fungicidas influyen en la absorción, transporte y asimilación de los nutrimentos. Se recomienda realizar evaluaciones en un año o más, dado que el ciclo biológico de este patógeno es de 12 meses.

## 2.7 Literatura citada

- Álvarez, J., J. Rodríguez, y D. Suarez. 1999. Mejoramiento de la productividad de plantaciones de *Pinus radiata* D. Don, a través de un método racional de fertilización. *Bosque* 20:1 23-36.
- Amtmann, A., S. Troufflard, and P. Armengaud. 2008. The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants. *Physiologia Plantarum* 133:4 682-691.
- Atkinson, C. J., T.A. Mansfield, M.R. McAinsh C. Brownlee, and A. M. Hetherington. 1990. Interactions of calcium with abscisic acid in the control of stomatal aperture. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 1865-6: 333-339.
- Badar, R., and S.A. Qureshi. 2014. Comparative effects of biofertilizers, chemical fertilizer and fungicide on growth of *Brassica nigra*. *International Journal of Advanced Research* 2:8 266-278.
- Badii, M. H., y J. Castillo. 2017. Análisis de correlación canónica ACC e investigación científica. *Innovaciones de Negocios* 4:2 405-422.
- 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. Oxford: Wiley-Blackwell. 347 p.
- Calixto, C. G., M.A. López, A. Equihua, D.E. Lira, y V.M. Cetina. 2015. Crecimiento de *Cedrela odorata* e incidencia de *Hypsipyla grandella* en respuesta al manejo nutrimental. *Bosque Valdivia* 362: 265-273.
- Campbell, C. L., and L.V. Madden. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley y Sons. 532 p.

- Cao, F. Y., K. Yoshioka, and D. Desveaux. 2011. The roles of ABA in plant–pathogen interactions. *Journal of Plant Research* 124:4 489-499.
- Castaña, C., C. Colinas, M. Gómez, and J. Oliva. 2014. Outbreak of Swiss needle cast caused by the fungus *Phaeocryptopus gaeumannii* on Douglas-fir in Spain. *New Disease Reports* 29:19 2044-0588.
- Castellanos, Z. J., J. X. Uvalle-Bueno, y A. Aguilar-Santelises. 2000. Memoria del curso sobre interpretación de análisis de suelos, aguas agrícolas, plantas y ECP. Instituto de Capacitación para la Productividad Agrícola. 188 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. *Journal of Seed Science* 41:1 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 *Phaeocryptopus gaeumannii* Rhode Petrak en *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca* Beissn. Mayr. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 5:22 104-118.
- 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. *Agronomy for sustainable development* 28:1: 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 Phytologist* 163:1 139-147.
- 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 Latinoamericana* 17:3 209-219.
- Gooding, M.J., P.S. Kettewell, and T.J. Hocking. 1991 Effect of urea alone or with fungicide on the yield and bread making quality of wheat when sprayed at flag leaf and ear emergence. *The Journal of Agricultural Science* 117:2 149-155.
- Graham, R.D., and M.J. Webb. 1991. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. pp.329- 370. *In*: J.J. Mortvedt, F.R. Cox, L.M. Shuman, and R.M. Welch. *Micronutrients in Agriculture*. 2nd edition. Soil Science Society of America.
- Gupta, N., S. Debnath, S. Sharma, P. Sharma, and J. Purohit. 2017. Role of nutrients in controlling the plant diseases in sustainable agriculture. pp. 217-262. *In*: *Agriculturally important microbes for sustainable agriculture*. Springer, Singapore.
- Hansen, E. M., y K.J. Lewis. 2003. *Plagas y enfermedades de las coníferas*. APS. Mundi-Prensa. España. 101 p.
- 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 Disease* 84:7 773-778.
- Hernández V., R. R., M.A. López L., y P. Flores N. 2018. Crecimiento y estado nutrimental de una plantación de *Pinus cooperi* Blanco fertilizada con NPK. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 9:48 115-134.
- Herrera H., J. G., G. Artiga C., y S. Brito E. 2010. *Bioestadística en ciencias veterinarias: procedimientos de análisis de datos con " SAS"*. Universidad Complutense de Madrid, Área de Ciencias de la Salud. 251 p.

- Huber, D. M., and S. Haneklaus. 2007. Managing nutrition to control plant disease. *Landbauforschung Volkenrode* 57:4 313-322.
- Huber, D., V. Römhel, and M. Weinmann. 2012. Relationship between nutrition, plant Diseases and pests. pp. 283-298. *In: Marschner, H. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Third edition.*
- Huber, D.M. and R.D. Graham. 1999. The role of nutrition in crop resistance and tolerance to disease. pp. 205–226. *In: Rengel, Z. Mineral nutrition of crops fundamental mechanisms and implications. Food Product Press, New York.*
- Johnson, G. R. 2002. Genetic variation in tolerance of Douglas-fir to Swiss needle cast as assessed by symptom expression. *Silvae Genetica* 51: 2-3 80-88.
- Khattabi, N., B. Ezzahiri, L. Louali, and A. Oihabi. 2004. Effect of nitrogen fertilizers and *Trichoderma harzianum* on *Sclerotium rolfsii*. *Agronomie* 245: 281-288.
- Krauss, A. 1999. Balanced nutrition and biotic stress. *In: IFA agricultural conference on managing plant nutrition.*
- López-López, M. A., y E. Estañol-Botello. 2007. Detección de deficiencias de hierro en *Pinus leiophylla* a partir de los efectos de dilución y concentración nutrimental. *Terra Latinoamericana* 25:1 9-15.
- MacRobbie, E. A. C. 1992. Calcium and ABA-induced stomatal closure. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 338: 5-18.
- Maguire, D. A., A. Kanaskie, W. Voelker, R. Johnson, and G. Johnson. 2002. Growth of young Douglas-fir plantations across a gradient in Swiss needle cast severity. *Western Journal of Applied Forestry* 17:2 86-95.
- 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 Phytologist* 148:3 481-491.

- McRoberts, N., Hughes, G., and Madden, L. V. 2003. The theoretical basis and practical application of relationships between different disease intensity measurements in plants. *Annals of applied Biology*. 142:2 191–211.
- Minbashi, M.M., M.A. Baghestani, and H. Rahimian Mashhadi. 2006. Possibility of tank mixing and foliar application of urea and selective herbicides in wheat *Triticum aestivum* L. *Applied Entomology And Phytopathology* 81: 102–121.
- Montero-Solís, F. M., M.Á. López-López, M. Jiménez-Casas, V.M. Cetina-Alcalá, D.E. Platas-Rosado, and C.J. López-Collado. 2017. *Gliricidia sepium* and fertilization affect growth, nutrient status, and incidence of *Hypsipyla grandella* in a *Cedrela odorata* plantation. *Agroforestry Systems* 93:3 813-823.
- 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 (Valdivia)* 33:2 127-134.
- Mulvey, R. L., D.C. Shaw, and D.A. Maguire. 2013. Fertilization impacts on Swiss needle cast disease severity in western Oregon. *Forest Ecology and Management* 287: 147-158.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000. Diario Oficial de la Federación, 14 de agosto de 2001. México. 85 p.
- Núñez E., R. 2013. El suelo como medio natural en la nutrición de los cultivos. pp. 94-149. *In*: Alcántar, G. G., y L. I. Trejo T. *Nutrición de cultivos*. BBA.
- Opazo A., J. D., A. Luchsinger L. y O. Neira V. 2008. Factores de suelo y planta para determinar la fertilización nitrogenada en maíz dulce en la zona central de Chile. *IDESIA (Chile)* 26:2 53-58.
- Osorio O., M. 2007. Detección del hongo defoliador *Phaeocryptopus gaeumannii* en plantaciones de *Pseudotsuga menziesii* de Valdivia, Chile. *Bosque* 28:1 69-74.

- 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*. *Interdisciplinary Toxicology* 7:1 5-11.
- Pérez-Camacho, M., M. Á. López-López, A. Equihua-Martínez., V.M. Cetina-Alcalá, y J.T. Méndez-Montiel. 2013. Relationships between site factors and bark beetle attack on pine trees. *Journal of Biological Sciences* 13:7 621-627.
- R Core Team 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [En línea]. Disponible en: <https://www.R-project.org/>. (revisado el 20 de mayo de 2019).
- Römheld, V., and H. Marschner. 1991. Function of micronutrients in plants. pp. 297–328. *In: Mortvedt, J.J., F.R. Cox, L.M. Shuman, and R.M. Welch. Micronutrients in Agriculture. Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA.*
- Rosana, E. M., A.M. Kange, L.N. Wati, and D.O. Otake. 2017. Effects of fertilizer and fungicide application rates on the incidence and severity of late blight *Phytophthora infestans* on irish potatoes *Solanum tuberosum* L. *World Journal of Agricultural Research* 53: 169-176.
- Rouhani, M., and M.A. Samih. 2013. Effects of tank-mixing of micronutrients and amitraz by foliar application on abundance of *Agonoscena pistaciae* in pistachio orchards. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 37:4 437-442.
- SAS Institute Inc. 2013. SAS System for Windows. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Stone, J. K., B.R. Capitano, and J.L. Kerrigan. 2008. The histopathology of *Phaeocryptopus gaeumannii* on Douglas-fir needles. *Mycologia* 100:3 431-444.
- Strange, R. N. 2006. Introduction to plant pathology. John Wiley & Sons. 480 p.
- 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*. Forest Pathology 34:6 383-394.
- Temel, F., J.K. Stone, and G.R. Johnson. 2003. First report of Swiss needle cast caused by *Phaeocryptopus gaeumannii* on Douglas-fir in Turkey. Plant Disease 87:12 1536-1536.
- Thompson, I. A., and D.M. Huber. 2007. Manganese and plant disease. pp. 139-154. In: Datnoff, L. E., W.H. Elmer, y D.M. Huber. Mineral nutrition and plant disease. St. Paul, Minn. American Phytopathological Society (APS press).
- Timmer, V. R., and Stone, E. L. 1978. Comparative foliar analysis of young balsam fir fertilized with nitrogen, phosphorus, potassium, and lime. Soil Science Society of America Journal 42:1 125-130.
- Ton, J., V. Flors, and B. Mauch-Mani. 2009. The multifaceted role of ABA in disease resistance. Trends in Plant Science 14:6 310-317.
- Velázquez-Mendoza, J., O.J. Salgado-Feregrino, M.D.J. Yáñez-Morales, y M. Jiménez-Casas. 2017. *In vitro* primer reporte del efecto de nutrimentos y del silicio en el crecimiento de *Phaeocryptopus gaeumannii*, un patógeno de *Pseudotsuga menziesii*. Revista mexicana de fitopatología 35:1 139-149.
- 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 in Mycology. 87: 257–421.
- Walters, D. 2015. Physiological responses of plants to attack. John Wiley & Sons. 229 p.
- Wells, C., and L. Allen. 1985. When and where to apply fertilizer: a loblolly pine management guide. USDA Southeastern Forest Experiment Station. 23 p.
- Yang, Y., J. Shah, and D.F. Klessig. 1997. Signal perception and transduction in plant defence responses. Genes and Development. 11:13 1621–1639.

- Yung-Hsiang, L., D.C. Shaw, G. Ritóková, and J. A. Hatten. 2019a. Associations between swiss needle cast severity and foliar nutrients in young-Growth douglas-Fir in coastal western Oregon and southwest Washington, USA. *Forest Science* 20:20 1-6.
- Yung-Hsiang, L., D.C. Shaw, P.A. Beedlow, E. H. Lee, and R.S. Waschmann. 2019b. Severity of swiss needle cast in young and mature douglas-fir forests in western Oregon, USA. *Forest Ecology and Management* 442: 79-95.
- Zielińska, M., and M. Michniewicz. 2001. The effect of calcium on the production of ethylene and abscisic acid by fungus *Fusarium culmorum* and by wheat seedlings infected with that pathogen. *Acta Physiologiae Plantarum* 23:1 79-85.
- Zörb, C., M. Senbayram, and E. Peiter. 2014. Potassium in agriculture—status and perspectives. *Journal of Plant Physiology* 171:9 656-669.

## CONCLUSIONES GENERALES

La retención de acículas fue favorecida principalmente por los tratamientos propiconazol y prochloraz con sulfato de potasio, pero desfavorecida por la interacción urea con prochloraz y el tratamiento con urea sin fungicida. El sulfato de potasio tuvo influencia positiva en la retención de acículas. El índice de colonización fue mayor con el propiconazol con sulfato de potasio. La interacción prochloraz con sulfato de potasio aumentó el área foliar media.

El área bajo la curva para los valores de cohorte de edad mostró diferencias en todas las variables estudiadas. La retención de acículas y el área foliar fueron mayores en la cohorte 2017; el índice de colonización fue mayor en el follaje 2016. En el caso de los fertilizantes, la aplicación de urea disminuyó la retención de acículas. Ambos fungicidas tuvieron un efecto mayor en la retención del follaje, en comparación con el testigo. Debido a que el índice de colonización no difirió significativamente entre los grupos de transparencia de copa, las diferencias en las acículas retenidas se pueden atribuir a la tolerancia.

El modelo logístico se ajustó mejor a los datos de número de pseudotecios para todos los tratamientos, aunque no existen diferencias significativas entre las tasas relativas de incremento de la enfermedad. La transparencia de copa, asociado a la cantidad de follaje retenido, afectó negativamente el crecimiento en diámetro basal, la longitud del brote y el área foliar, debido al estado de raleo del árbol. El desarrollo de los pseudotecios principalmente se acumuló en la punta y parte media de las acículas. Se demuestra que la cantidad de pseudotecios en las acículas de *P. menziesii* expresado como severidad, incidencia o el producto de ambos tienen una relación inversa proporcional con la retención del follaje. De acuerdo con el análisis de correlaciones canónicas, la primera correlación resultó estadísticamente significativa y explica el 92 % de la variabilidad. La concentración foliar de nitrógeno y la incidencia del tizón tienen una relación directamente proporcional. Las variables nutrimentales asociadas a la severidad e incidencia fueron el contenido de calcio y manganeso, principalmente.

El contenido de magnesio, cobre y nitrógeno se correlacionaron en menor medida. Se observaron antagonismos y sinergismos entre los tratamientos aplicados y el efecto en la concentración, contenido y biomasa foliar. El análisis de vectores muestra que los fungicidas aplicados en este estudio influyen en la absorción, transporte y asimilación de los nutrimentos. Se recomienda realizar evaluaciones en un año o más, dado que el ciclo biológico de este patógeno es de 12 meses.