



7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

**Gestión del monte: servicios
ambientales y bioeconomía**

26 - 30 junio 2017 | Plasencia
Cáceres, Extremadura

7CFE01-490

Edita: Sociedad Española de Ciencias Forestales
Plasencia. Cáceres, Extremadura. 26-30 junio 2017
ISBN 978-84-941695-2-6

© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Evaluación del efecto de una fertilización orgánica en el crecimiento de *Pinus radiata* y su susceptibilidad a *Fusarium circinatum*

OTERO NALBAN, M.¹, SALCEDO LARRALDE, I.², TXARTERINA URKIRI, K.³, AZURMENDI IRASUEGI, F.⁴, DUÑABEITIA AURREKOETXEA M.²

¹SAIONAIMER S.L., Edificio 612 (BIC Bizkaia), Parque Tecnológico y Científico de Bizkaia, 48160-Derio, Bizkaia

²UPV/EHU, Facultad de Ciencia y Tecnología, Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Apdo. 644, 48080 Bilbao

³BASALAN S.A., Avenida Madariaga 1, Dpto. 9, 48014 Bilbao

⁴Confederación de Forestalistas del País Vasco, Barrio Gumuzio s/n, 48960-Galdakao, Bizkaia

Resumen

La nutrición es uno de los factores que más limita el crecimiento de la planta forestal. Por ello, el manejo convencional de producción en vivero se ha basado en la fertilización mineral enfocada a potenciar un crecimiento vigoroso. Sin embargo, hoy día se sabe que un aporte excesivo de nitrógeno mineral puede causar desequilibrios morfológicos y formar tejidos más suculentos, y esto, con frecuencia, incrementa la susceptibilidad de la planta al estrés. Como alternativa a la fertilización convencional, en este trabajo se presenta el análisis comparativo de un abonado mineral frente a un fertilizante orgánico de acción bioestimulante, en el que se evalúa su efecto en el crecimiento de *Pinus radiata*, así como su respuesta a la infección por *Fusarium circinatum* en planta de una y dos savias. Los parámetros biométricos analizados a la finalización de la fase de vivero muestran que la planta producida con el fertilizante orgánico es más equilibrada, destacando el gran desarrollo del sistema radical. Además, los parámetros relacionados con la sintomatología de la infección tras la inoculación con el patógeno y la determinación del grado de daño interno indican que la aplicación del fertilizante orgánico incrementa la tolerancia de la plántula a la enfermedad.

Palabras clave

Fertilización natural, País Vasco, resistencia patógeno, vivero

1. Introducción

Uno de los factores que más delimita el crecimiento de la planta forestal en el vivero y que, además, condiciona en gran medida su posterior desarrollo en campo es la nutrición. El manejo convencional de la producción de pino radiata se basa en la fertilización mineral (N-P-K), que busca potenciar un crecimiento vigoroso que reduzca el estrés y mejore la salud general del árbol (BLODGETT *et al.*, 2005). En este sentido, varios trabajos constatan el efecto favorable de un incremento en el aporte y la concentración de nitrógeno en la actividad fotosintética (HAWKINS *et al.*, 1995) y, en consecuencia, en la extensión de nuevas raíces (VAN DEN DRIESSCHE, 1992), lo que, tras el trasplante a campo, incrementaría su adaptación a las nuevas condiciones y su posterior crecimiento. Sin embargo, otros estudios han demostrado que el aporte de nitrógeno puede tener efectos desfavorables al causar desequilibrios morfológicos debido a un mayor desarrollo aéreo (VAN DEN DRIESSCHE, 1992; LANDIS, 1989), lo que afecta negativamente a su capacidad de tolerar el déficit hídrico post-trasplante; además, al favorecer la formación de tejidos más suculentos (LANDIS, 1989), incrementa, asimismo, la susceptibilidad a organismos patógenos (SNOEIJERS *et al.*, 2000).

En la actualidad, como alternativa a la fertilización convencional, se plantean diversas opciones de origen orgánico, pero, en general, su efectividad está poco estudiada, y más aún en el caso de la producción de planta forestal. La empresa Saionaimer SL ha obtenido, a partir de residuos verdes hortícolas procedentes de cultivos intensivos bajo plástico, un extracto vegetal

metabólicamente activo que, mediante la concurrencia de microorganismos eficientes, principalmente solubilizadores de fósforo y de potasio, puede, además de contribuir a la nutrición de la planta, estimular su metabolismo secundario, lo que según BHATTACHARJEE & DEY (2014), en su revisión sobre biofertilizantes, podría contribuir a mejorar su tolerancia al estrés biótico.

2. Objetivos

Valorar la efectividad del insumo agrícola orgánico (biofertilizante) desarrollado por Saionaimer SL en la producción de *Pinus radiata* en vivero como alternativa a la fertilización convencional (N-P-K) y, por otro lado, evaluar la susceptibilidad de la plántula de pino a la infección por *Fusarium circinatum* en función de la fertilización aplicada en vivero.

3. Metodología

La semilla de Huerto Semillero (procedencia 0.7. Montes vasco-navarros, lote 3409/1034), se sembró en bandejas ARNABAT (35 alveolos de 200 cm³), sobre una mezcla de turba rubia:turba negra en proporción 1:1 (v/v). Se establecieron tres tratamientos de fertilización: 1) Control, en el que las plantas únicamente recibieron agua durante todo su crecimiento; 2) Convencional, en el que 3 g/L de fertilizante de liberación lenta Plantacote Plus (14:18:15 NPK + 2 Mg, Aglukon, Düsseldorf, Alemania; 8 meses de duración) se mezcló con el sustrato de turba previamente al llenado de las bandejas; 3) Orgánico: en el que las plantas fueron abonadas con el insumo orgánico, aplicándolo una vez al mes, regando cada planta con 50 ml de la dilución recomendada (1:5, v:v).

Las plantas de *Pinus radiata* D.Don crecieron en el vivero Martintxune (Basalan, Diputación Foral de Bizkaia), bajo túnel abierto, con riego a demanda, hasta los 9 meses, momento en el que se seleccionaron 25 plantas al azar de cada tratamiento y se caracterizaron con el fin de evaluar el efecto de la fertilización a la finalización de la fase de vivero. La caracterización se realizó en base a la altura, el diámetro a nivel de cuello de raíz y el peso seco (raíz, tallo y parte aérea), lo que permitió calcular el Índice de Calidad de Dickson (ICD)= peso seco total (g)/[(altura (cm)/diámetro (mm)) + (peso seco parte aérea (g)/peso seco raíz (g))] (DICKSON *et al.*, 1960). Asimismo, se determinó el contenido en clorofilas en las acículas, mediante extracción con DMSO (WELLBURN, 1994), y se analizó su contenido en macronutrientes N-P-K-Mg (laboratorios Neiker-Tecnalia, Derio). A continuación, las plantas se trasplantaron a contenedores QuickPot™ (110mm x 110mm x 200mm y 1600 cm³ de capacidad), empleando la misma mezcla de sustrato de turba:vermiculita (1:1, v/v). Un lote, compuesto por 30 plantas de cada tratamiento, se trasladó a una cámara de condiciones controladas donde, previa aclimatación de un mes, se inoculó con *F. circinatum* Nirenberg & O'Donnell a fin de evaluar su susceptibilidad. El resto de las plantas siguieron creciendo en el vivero con los mismos tratamientos de fertilización, pero en exterior, hasta los 17 meses, momento en el que se trasladaron a la cámara de crecimiento para, previa aclimatación de un mes, testar su susceptibilidad al patógeno.

La susceptibilidad se evaluó mediante aplicación de inóculo esporal y seguimiento de sintomatología de la enfermedad durante 7 semanas, según MARTÍN-RODRIGUES y cols. (2013). Además, se determinó la longitud del chancro formado en el tallo y se analizaron cortes transversales seriados, a la altura del punto de inoculación, con el fin de valorar el efecto de la infección a nivel histológico en base a la superficie del tallo afectada por necrosis, calculada con el programa ImageJ a partir de las fotos realizadas a la lupa.

Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS Inc (Chicago, Illinois). Tras verificar la normalidad en la distribución de los datos, el análisis de varianza (ANOVA), seguido de una comparación múltiple post hoc de medias observadas mediante el test de Tukey, permitió determinar las diferencias significativas entre grupos.

4. Resultados

Al finalizar la fase de vivero las plantas de pino presentaban diferencias significativas en su crecimiento en función del tratamiento de fertilización (Tabla 1). Las plantas Control, sin aplicación de fertilización, fueron las de menor desarrollo; mientras que las crecidas de forma convencional, con abono de liberación lenta, fueron las que más crecieron en parte aérea, tanto en altura como en biomasa foliar; sin embargo, a nivel de raíz, fueron las crecidas con el insumo orgánico las de mayor desarrollo radical.

Tabla 1. Parámetros biométricos, contenido en clorofila y contenido en nutrientes de las plantas de pino radiata a los 9 meses de crecimiento en vivero con diferentes regímenes de fertilización: solo agua (Control), con fertilización convencional (NPK liberación lenta) y con fertilización orgánica. Letras diferentes indican la existencia de diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) entre tratamientos.

Fertilización	Altura (cm)	Dm CR (mm)		Peso seco (g)			Índice de Dickson	Clorofila (mg/gPS)
		Cuello Raíz	Media altura	Raíz	Tallo	Acículas		
Control	23,5±0,41c	2,9±0,11c	2,4±0,08b	0,31±0,01c	0,14±0,01c	0,39±0,07c	0,08±0,01c	2,63±0,15c
Convencional	63,8±1,72a	7,7±0,43a	3,9±0,21a	1,47±0,11b	1,14±0,06a	2,02±0,11a	0,44±0,02b	5,73±0,38b
Orgánica	48,1±1,45b	6,4±0,21b	3,1±0,15c	2,48±0,18a	0,71±0,04b	1,68±0,12b	0,58±0,03a	6,69±0,15a

Fertilización	Nitrogeno total (%)		Fosforo (g/Kg)		Potasio (g/Kg)		Magnesio (g/Kg)	
	Tallo	Acículas	Tallo	Acículas	Tallo	Acículas	Tallo	Acículas
Control	0,32±0,08b	0,5±0,1b	1,87±0,2b	2,58±0,2a	6,75±0,5c	12,9±1,4c	0,81±0,2b	0,86±0,2 b
Convencional	0,38±0,06b	1,02±0,2a	1,71±0,2b	2,07±0,3a	7,88±0,6b	14,3±1,3b	0,74±0,1b	1,15±0,1a
Orgánica	0,51±0,11a	0,86±0,1a	2,35±0,3a	2,32±0,1a	12,9±0,7a	20,9±1,3a	1,07±0,1a	1,17±0,1a

Las variables biométricas en conjunto, indican que son las plantas fertilizadas con el insumo orgánico las que presentan la morfología más equilibrada, lo que se vio reflejado en el mayor Índice de calidad de Dickson. Asimismo, señalar que estas plantas presentaron el contenido más alto en clorofila total de las acículas y un contenido en P, K y Mg significativamente mayor que las de los otros dos tratamientos, destacando especialmente el elevado contenido en K; el contenido en N fue similar en ambos tratamientos de fertilización. Por el contrario, las plantas control mostraban el efecto de la falta de fertilización, tanto en el contenido en clorofila, reflejado en el color clorótico de las acículas, como en el bajo contenido en nutrientes en tallo y acículas.

La inoculación con el patógeno causó un progresivo deterioro de las plantas, pero con diferente nivel de severidad dependiendo del tratamiento de fertilización aplicado y de la edad de las plantas. A los 10 meses del ensayo, sólo un 10% de las plantas control (no fertilizadas) sobrevivieron, frente al 25 % de las fertilizadas, destacando entre éstas que sólo un 10% de las crecidas con abono de liberación lenta se mantuvieron asintomáticas frente al 21% de las crecidas con insumo orgánico (Figura 1). Las plantas de 18 meses mostraron mayor tolerancia a la infección, con una supervivencia del 60% en el caso de las plantas no fertilizadas y en el de las fertilizadas de forma convencional, mientras que las plantas producidas con el fertilizante orgánico destacan por presentar una tasa de supervivencia del 90% y por mantenerse

asintomáticas más de un 70% de las plantas transcurridos 49 días de la inoculación. Cabe destacar también que las plantas fertilizadas de forma convencional fueron las que más resina exudaron, manteniéndose la resina fresca transcurridos 49 días de la inoculación. Sin embargo, los pinos crecidos con aplicación de fertilizante orgánico resinaron menos y la resina aparecía solidificada sobre la herida.

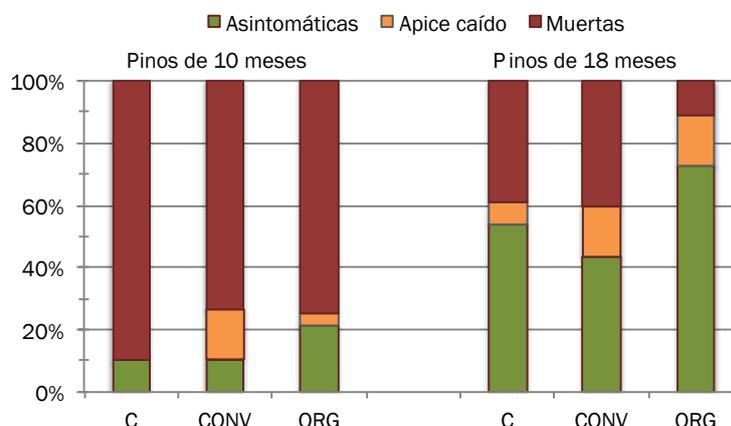


Figura 1. Incidencia de la enfermedad en base a la sintomatología observada a los 49 días de la inoculación con *Fusarium circinatum* en pinos crecidos durante 10 y 18 meses en vivero con diferentes regímenes de fertilización: solo agua (C), con fertilización convencional NPK liberación lenta (CONV) y con fertilizante orgánico (ORG). (n=30)

Las diferencias entre tratamientos de fertilización también se apreciaron al eliminar las acículas y medir la longitud del chancro formado (Figura 2), ya que en los pinos crecidos con abono de liberación lenta se formaron los más grandes, tanto en planta de 10 meses como de 18, de 3 cm y casi 4 cm respectivamente; en los pinos control, la longitud media fue de 2,6 cm a los de 10 meses y casi 3 cm a los 18 meses; sin embargo, en los pinos crecidos con el insumo orgánico, los chancros no superaban 1,5 cm en las plantas más jóvenes y el valor era aún menor en las de 18 meses, encontrándose varias plantas sin indicios de formación de chancro.

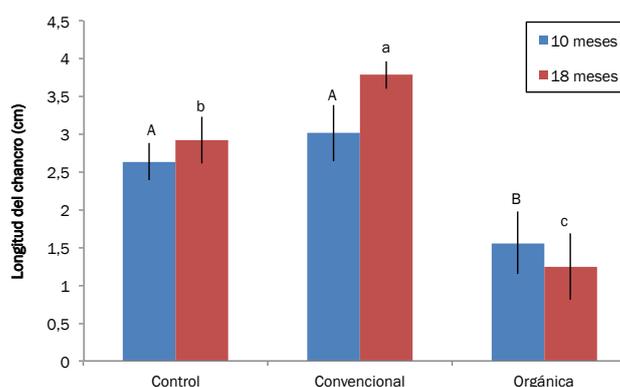


Figura 2. Longitud del chancro, a los 49 días de la inoculación con el patógeno en tallo de pinos crecidos durante 10 y 18 meses en vivero con diferentes regímenes de fertilización: solo agua (control), fertilizante NPK de liberación lenta (Convencional) y fertilizante orgánico (Orgánica). Letras diferentes indican la existencia de diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) entre tratamientos para cada grupo de edad.

Finalmente, con respecto a los tejidos del tallo en corte transversal, su análisis a la lupa mostró que, aunque en el caso de las plantas sintomáticas no había diferencias significativas (Figura 3), en las que permanecían asintomáticas a los 49 días de la inoculación, las crecidas

con aplicación del insumo orgánico presentaban la mayor cantidad de tejido vivo en el tallo, incluida la medula, llegando en algunas plantas a no presentar afección alguna, a pesar de tener un diámetro de tallo en el punto de inoculación significativamente menor que el de las plantas crecidas con abono mineral.

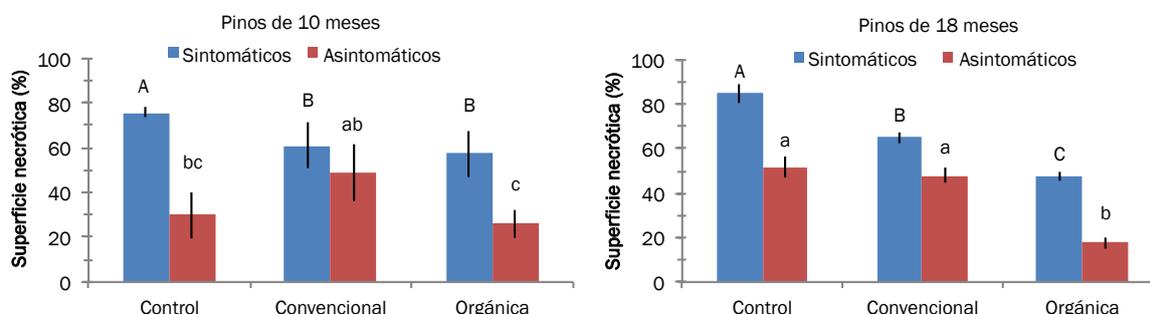


Figura 3. Porcentaje de la superficie del tallo, en corte transversal, afectada por necrosis de los tejidos, en pinos sintomáticos y asintomáticos a los 49 días de la inoculación con el patógeno. Plantas crecidas en vivero durante 10 meses (izquierda) y 18 meses (derecha) bajo diferentes regímenes de fertilización: solo agua (control), fertilizante NPK de liberación lenta (Convencional) y fertilizante orgánico (Orgánica). Letras diferentes indican la existencia de diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) entre tratamientos en función de la sintomatología.

5. Discusión

Los resultados obtenidos muestran un patrón de crecimiento del pino diferente en función de la fertilización aplicada en el vivero, lo que coincide con estudios previos que indican que tanto la cantidad como la fuente de nitrógeno utilizada influyen en la forma en la que se reparte el crecimiento en la planta, favoreciéndose la parte aérea cuando el aporte es elevado, y la parte radical cuando es más limitado (ERICSSON, 1995; KAAKINEN *et al.*, 2004; HERMANS *et al.*, 2006). La aplicación del biofertilizante dota a la planta de un buen contenido en nitrógeno, muy similar al de las plantas fertilizadas con el abono convencional, pero con la ventaja de desarrollar un crecimiento radical mucho mayor, lo que favorece un crecimiento más equilibrado y proporciona un mejor índice de calidad de planta. Estas diferencias a la finalización de la fase de vivero son de vital importancia para la supervivencia y posterior crecimiento de los plantones tras el trasplante a campo. Una mayor biomasa radical supone una ventaja competitiva en condiciones de campo, y, como señalan GRUFFMAN *et al.* (2012), favorece el crecimiento tras el trasplante.

Con respecto a la susceptibilidad a la infección por *F. circinatum*, las plantas más afectadas por la inoculación con el patógeno han sido las no fertilizadas (control), con un crecimiento reducido y claros síntomas de deficiencia en nutrientes. En el caso de las fertilizadas, es de destacar que las más susceptibles son las crecidas con abono de liberación lenta; las crecidas con el fertilizante orgánico, visualmente más robustas y endurecidas, son las que muestran el mayor porcentaje de plantas asintomáticas y menor grado de daño de los tejidos internos del tallo a la altura del punto de inoculación, con diferencias especialmente destacables en el caso de las plantas asintomáticas. Estos resultados son coincidentes con estudios previos sobre fertilización y susceptibilidad a la infección, en los que se ha observado que la fertilización con N aumenta la mortalidad en plántulas de *Pinus pinaster* Aiton infectadas con *F. circinatum* (VIVAS *et al.*, 2009), que la adición de N y P inorgánico a plantaciones de *Pinus elliotii* Engelm. infectadas incrementa la mortalidad y merma el crecimiento de los árboles (FISHER *et al.*, 1981) o que la adición de NPK a plántulas de *Pinus virginiana* Mill. incrementa el tamaño de los chancros con respecto a las plántulas que sólo reciben P y K (FRAEDRICH & WITCHER, 1982).

Finalmente destacar que, según GORDON y cols. (1998), si la longitud de la lesión causada por *F. circinatum*, permanece por debajo de los 2 cm, es indicativo de una respuesta resistente para este patógeno. La longitud del chancro de las plantas crecidas con el fertilizante orgánico no superó 1,5 cm, a diferencia de las no fertilizadas y las abonadas con liberación lenta, que superaron 2 cm y 3 cm respectivamente, lo que refuerza la idea de una significativa menor susceptibilidad.

Por otra parte, hay que destacar que en los pinos asintomáticos, en la zona de inoculación, se observaba un cambio de color a marrón oscuro con exudación de gotas del mismo color, mucho más intenso y localizado en los pinos crecidos con fertilizante orgánico, en los que además, no se observaba avance de infección hacia los tejidos internos. Las coníferas responden a la infección por un patógeno con la inducción de diferentes cambios estructurales como por ejemplo la acumulación de lignina y suberina y el oscurecimiento del cortex y de la región endodérmica del tallo debido a un incremento en la concentración de fenoles (KOZLOWSKI & MÉTRAUX, 1998). Los compuestos fenólicos, presentes principalmente en el floema, la corteza, y en células especializadas del parénquima de los pinos (FRANCESCHI *et al.*, 2005) dificultan la colonización de los tejidos por el organismo invasor. En este sentido, el estudio realizado por BLODGETT *et al.* (2005) en *Pinus resinosa* Aiton con *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton, hongo patógeno que produce una sintomatología similar a la de *F. circinatum*, mostró que la aplicación de NPK (18-5-4) produce un crecimiento vigoroso del pino, pero disminuye significativamente la resistencia al patógeno, incrementando en un 50% el tamaño del chancro causado por la inoculación y reduciendo los niveles de lignina y el contenido total en fenoles de los tejidos del pino. A elevada disponibilidad de N, el metabolismo de la planta cambia, algunos enzimas claves del metabolismo de los fenoles tienen menor actividad, el contenido en fenoles descende y el contenido en lignina puede ser menor (DORDAS, 2008), lo que merma la capacidad defensiva de la planta.

Otro importante mecanismo de resistencia química es la producción de oleorresina que, ante un agente agresor, genera una importante barrera física tóxica para muchos hongos patógenos. Sin embargo, en el caso de *F. circinatum*, no es así, ya que además de tolerar la resina, incluso estimula su producción para utilizarla en la colonización vertical de nuevas zonas del tallo de *Pinus radiata* (MARTÍN-RODRIGUES *et al.*, 2013), lo que sugiere que la producción de resina es proporcional al grado de susceptibilidad del pino al patógeno. La inoculación produjo una estimulación de la producción de resina, especialmente destacable en las plantas fertilizadas con abono de liberación lenta que, además, se mantenía fresca 7 semanas después de la inoculación. Por el contrario, en prácticamente todas las plantas no fertilizadas y en las fertilizadas con el insumo orgánico, se formó una costra seca en la herida. Al producirse una herida, los mono- y sesquiterpenos que componen la resina se volatilizan en contacto con el aire, los diterpenos se oxidan y la resina remanente polimeriza generando una especie de costra que la cierra (ZAS & SAMPEDRO, 2013), por lo que los resultados obtenidos sugieren una diferente composición de la resina en función de la nutrición de la planta.

6. Conclusiones

La aplicación del fertilizante orgánico de acción bioestimulante durante la fase de crecimiento en vivero posibilita la producción de planta de pino con una elevada relación raíz/parte aérea, sin deficiencias nutricionales y con un sistema radical bien ramificado, factores clave para superar con éxito el estrés post-trasplante. Además, favorece la capacidad defensiva de la planta al estimular los mecanismos de defensa de la planta y favorecer una composición de los tejidos que dificulta el avance de la infección, lo que contribuye a reducir la susceptibilidad al patógeno.

7. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado gracias a la colaboración de la Confederación de Forestalistas del País Vasco mediante la financiación del Proyecto Universidad-Sociedad US14/04, y de la empresa Saionaimer a través del Proyecto bajo contrato Ref. 2014.0543.

8. Bibliografía

BLODGETT, J.T.; HERMS, D.A.; BONELLO, P.; 2005. Effects of fertilization on red pine defense chemistry and resistance to *Sphaeropsis sapinea*. *For Ecol Manage* 208, 373-382.

BHATTACHARJEE, R.; DEY, U.; 2014. Biofertilizer, a way towards organic agriculture: A review. *Afr J Microbiol Res* 24, 2332-2342.

DICKSON, A.; LEAF, A.; HOSNER J.; 1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedlings stock in nurseries. *Forest Chron* 36(1), 10-13.

DORDAS, C.; 2008. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. *Agron Sustain Dev* 28, 33-46.

ERICSSON, T.; 1995. Growth and shoot: root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. *Plant Soil* 168-169, 205-214.

FISHER, R.F.; GARBETT, W.S.; UNDERHILL, E.M.; 1981. Effect of fertilization on healthy and pitch canker-infected pines. *South J Appl For* 5, 77-79.

FRAEDRICH, B.R.; WITCHER, W.; 1982. Influence of fertilization on Pitch canker development on three southern pine species. *Plant Dis* 66, 938-940.

FRANCESCHI, V.R.; KROKENE, P.; KREKLING, T.; 2005. Anatomical and chemical defenses of conifer bark against bark beetles and other pests. *New Phytol* 167, 353-376.

GORDON, T.R.; OKAMOTO, D.; STORER A.J.; WOOD, D.L.; 1998. Susceptibility of five landscape pines to pitch canker disease, caused by *Fusarium subglutinans* f. sp. *pini*. *HortScience* 33, 868-871.

GRUFFMAN, L.; ISHIDA, T.; NORDIN, A.; NÄSHOLM, T.; 2012. Cultivation of Norway spruce and Scots pine on organic nitrogen improves seedling morphology and field performance. *For Ecol Manage* 276, 118-124.

HAWKINS, B.J.; DAVRADOU, M.; PIER, D.; SHORTT, R.; 1995. Frost hardiness and winter photosynthesis of *Thuja plicata* and *Pseudotsuga menziesii* seedlings grown at three rates of nitrogen and phosphorus supply. *Can J For Res* 25, 18-28.

HERMANS, C.; HAMMOND, J.P.; WHITE, P.J.; VERBRUGGEN, N.; 2006. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends Plant Sci* 11, 610-617.

KAAKINEN, S.; JOLKONEN, A.; LIVONEN, S.; VAPAAVUORI, E.; 2004. Growth, allocation and tissue chemistry of *Picea abies* seedlings affected by nutrient supply during the second growing season. *Tree Physiol* 24, 707-719.

KOZLOWSKY, G.; MÉTRAUZ, J.P.; 1998. Infection of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst) seedlings with *Pythium irregulare* Buism. and *Pythium ultimum* Trow.: histological and biochemical responses. *Eur J Plant Pathol* 104, 225-234.

LANDIS, T.D.; 1989. Mineral nutrients and fertilization. En: LANDIS T.D.; TINUS, R.W.; McDONALD, S.E.; BARNETT, J.P. (eds.): The container Tree Nursery Manual, Vol 4. Seedling nutrition and irrigation. *Agriculture Handbook* 674. Pp. 1-70. Forest Service. U.S. Dep. of Agríc.

MARTÍN-RODRIGUES, N.; ESPINEL, S.; SÁNCHEZ-ZABALA, J.; ORTÍZ, A., GONZÁLEZ-MURUA, C.; DUÑABEITIA, M.K.; 2013. Spatial and temporal dynamics of the colonization of *Pinus radiata* by *Fusarium circinatum*, of conidiophora development in pith and of traumatic resin duct formation. *New Phytol* 198, 1215-1227.

SNOEIJERS, S.; PÉREZ GARCÍA, A.; JOOSTEN, M.; DE WIT, P.; 2000. The effect of nitrogen on disease development and gene expression in bacterial and fungal plant pathogens. *Eur J For Pathol* 106, 493-506.

VAN DEN DRIESSCHE, R.; 1992. Changes in drought resistance and root growth capacity of container seedlings in response to nursery drought, nitrogen and potassium treatments. *Can J For Res* 22, 740-749.

VIVAS, M.; VRHOVNIK, M.; SOLLA, A.; 2009. Fertilización de plántulas de *Pinus pinaster* y su efecto en la susceptibilidad a *Fusarium circinatum*. En: S.E.C.F.-Junta de Castilla y León (eds.), *Actas 5º Congreso Forestal Español. Montes y sociedad: Saber qué hacer*. Ref.: 5CFE01-488. Sociedad Española de Ciencias Forestales. Pontevedra.

WELLBURN, A.R.; 1994. The spectral determination of chlorophyll a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J Plant Physiol* 144, 307-313.

ZAS, R.; SAMPEDRO, L.; 2013. Resistencia de los pinos a plagas y enfermedades: nuevas oportunidades de control fitosanitario. En: S.E.C.F. (ed.), *Actas 6º Congreso Forestal Español. Montes: Servicios y desarrollo rural*. Ref.: 6CFE02-019.