



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FRUTICULTURA

FERTILIZACIÓN INTEGRAL Y PRODUCCIÓN DE ÁRBOLES DE NARANJA CON SÍNTOMAS ASOCIADOS A VTC Y HLB

LUIS MANUEL HERNÁNDEZ MORALES

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2020

La presente tesis titulada: Fertilización Integral y producción de árboles de naranja con síntomas asociados a VTC y HLB realizada por el alumno: **Luis Manuel Hernández Morales** con 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
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
FRUTICULTURA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



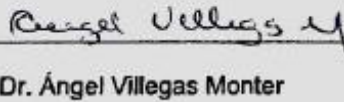
Dr. José Isabel Cortés Flores

DIRECTOR DE TESIS:




Dr. Eliseo García Pérez

ASESOR:



Dr. Ángel Villegas Monter

ASESOR:



Dr. José Antonio Mora Aguilera

Montecillo, Texcoco, Estado de México, junio de 2020

FERTILIZACIÓN INTEGRAL Y PRODUCCIÓN DE ÁRBOLES DE NARANJA CON SÍNTOMAS ASOCIADOS A VTC Y HLB

Luis Manuel Hernández Morales, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2020

RESUMEN

La producción de cítricos presenta problemas de bajo rendimiento y calidad de frutos, relacionado con la incidencia del Virus Tristeza de los Cítricos (VTC) y Huanglongbing (HLB). La precipitación pluvial baja, temperaturas altas y uso de *Citrus aurantium* como portainjerto los hacen más vulnerables a las enfermedades. El uso de portainjertos tolerantes, programas de fertilización y control de vectores son alternativas para atenuar los daños y mantener productivos a los árboles. El objetivo fue evaluar el efecto de la fertilización al suelo y foliar con macro y micronutrientes en la producción y comportamiento de los síntomas asociados a VTC y HLB, confirmados mediante PCR, en árboles de naranja 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*). Se trabajó en un huerto comercial de naranja de seis años, en producción, sin riego. Debido a la topografía irregular se seleccionaron árboles en las partes baja y alta del terreno; asintomáticos, con síntomas ligeros y avanzados asociados a VTC y HLB. El diseño experimental fue parcelas divididas en bloques al azar con tres repeticiones. Los tratamientos fueron fertilización química y orgánica al follaje, integrada con la fertilización química, orgánica y combinada al suelo. Antes de la fertilización, se realizó diagnóstico nutrimental mediante los índices DOP. Las variables fueron: incidencia de VTC y HLB, estatus nutrimental del árbol, síntomas de deficiencias nutrimentales en hojas, floración, amarre de fruto, rendimiento, composición mineral y calidad del fruto. La mayor incidencia para VTC fue de 47 % y para HLB de 64.7 % en la parte baja del huerto. Los índices DOP para N, S, Zn y Mn fueron más negativos en los árboles con síntomas ligeros y avanzados. El ORN fue Zn>Mn>Cu>P>B>Mg>K>Fe>N>S. La fertilización química y combinada al suelo y follaje incrementó la floración hasta 96 flores por metro cuadrado de dosel, y 89 frutos amarrados por rama principal. La falta de lluvia provocó severo estrés hídrico, que afectó la respuesta de los árboles a los tratamientos durante el desarrollo del fruto, por lo que se presentaron deficiencias de Zn y Mn, combinadas con moteado clorótico asimétrico en la lámina foliar y ramas secas. El rendimiento fue de 2 a

12 kg por árbol; con frutos de tamaño pequeño a mediano, con poco contenido de jugo, alto en azúcares totales, en ácido cítrico y composición mineral con deficiencias de la mayoría de los nutrimentos con excepción del P, Ca y Cu. La incidencia y severidad de VTC y HLB reducen el estatus nutrimental de los árboles, aunado al estrés hídrico son dos factores que están limitando la producción de naranjo 'Marrs'.

Palabras clave: *Citrus sinensis*, fertilización, producción, complejo de enfermedades.

INTEGRAL FERTILIZATION AND PRODUCTION OF ORANGE TREES WITH SYMPTOMS ASSOCIATED TO CTV AND HLB

Luis Manuel Hernández Morales, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2020

ABSTRACT

Citrus production presents problems of the low yield and fruit quality, related to the incidence of Citrus Tristeza Virus (CTV) and Huanglongbing (HLB). Low rainfall, high temperatures, and the use of *Citrus aurantium* as rootstock make them more vulnerable to diseases. The use of tolerant rootstocks, fertilization programs, and vector control are alternatives to mitigate damage and keep trees productive. The objective was to evaluate the effect on the soil and foliar fertilization with macro and micronutrients on the production and behavior of the symptoms associated to CTV and HLB, confirmed by PCR, in 'Marrs' orange trees (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*). Work was done in a six-year commercial orange orchard, in production, without irrigation. Due to the irregular topography, trees were selected in the lower and upper parts of the terrain; asymptomatic, with light and advanced symptoms associated with VTC and HLB. The experimental design was plots divided into random blocks with three replications. The treatments were chemical and organic fertilization to the foliage mixture with chemical, organic, and combined fertilization to the soil. Before fertilization, a nutritional diagnosis was made using DOP indices. The variables were incidence of CTV and HLB, tree nutritional status, symptoms of nutritional deficiencies in leaves, flowering, fruit set, yield, mineral composition, and fruit quality. The highest incidence for CTV was 47% and for HLB 64.7% in the lower part of the orchard. The DOP indices for N, S, Zn, and Mn was more negative in trees with mild and advanced symptoms. The ORN was Zn>Mn>Cu>P>B>Mg>K>Fe>N>S. Chemical and combined fertilization to the soil and foliage increased flowering to 96 flowers per square meter of the canopy, and 89 fruit set by the main branch. The lack of rain caused severe water stress, which affected the response of the trees to the treatments during the development of the fruit, the reason why Zn and Mn deficiencies were present, combined with asymmetric chlorotic mottling in the leaf blade and dry branches. The yield was of 2 to 12 kg per tree with fruits of small

to medium size, with little content of juice, high in total sugars, citric acid, and mineral composition with deficiencies of most nutrients except P, Ca, and Cu. The incidence and severity of CTV and HLB decrease the nutritional status of trees, coupled with water stress are two factors that are limiting the production of 'Marrs' orange.

Keywords: *Citrus sinensis*, fertilization, production, disease complex.

AGRADECIMIENTOS

Al **Colegio de Postgraduados** por darme la oportunidad de continuar con mi formación profesional.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por la beca otorgada durante el programa de posgrado realizado.

A los integrantes de mi consejo particular, **Dr. Eliseo García Pérez, Dr. José Isabel Cortés Flores, Dr. Ángel Villegas Monter y Dr. José Antonio Mora Aguilera**, por su apoyo incondicional, enseñanzas, consejos y sobre todo por su amistad y confianza brindada desde el inicio de la investigación hasta ahora; de todo corazón, gracias.

Al **Dr. Alfredo López Jiménez** por su participación como sinodal y enseñanzas brindadas.

A los **profesores investigadores** que participaron en las enseñanzas y nuevos conocimientos durante mi estadía en el programa de posgrado.

A la **M.C. Rosalba Contreras Maya**, por su apoyo y asesoría en los análisis moleculares de patógenos en el laboratorio de cultivo in vitro; y al personal encargado de los laboratorios de postcosecha y fertilidad de suelos de los posgrados de Fruticultura y Edafología.

A mis **amigos y compañeros del PREGEP- Fruticultura** y de otros posgrados por su amistad, apoyo y compañía en los momentos buenos y malos.

A la **C. Monserrat** por el apoyo brindado en trámites académicos y administrativos.

Al **C. Samuel Pacheco y familiares** por su confianza y apoyo en las prácticas de campo realizadas en el huerto de naranjos, en la comunidad de Rancho Nuevo, Cazones de Herrera, Veracruz.

A mi amiga **Jhoani** por ser la primera persona en darme la bienvenida en el Colegio y por su amistad, apoyo y compañía en todo momento.

DEDICATORIA

A **Dios** por darme vida, salud y prosperidad en la adversidad para poder salir siempre adelante en el camino de la vida.

A mis padres **Florinda Morales Rivera** y **Luis Hernández Mendiola** por darme la vida, el apoyo, los cuidados, consejos y la confianza plena sobre las acciones y decisiones en el trayecto de mi vida.

A mis hermanos **Jair Alejandro**, **Flor Jazmín**, **Eduardo** y **Jesús**, sin ellos la vida no tendría sentido y son la razón de no desistir en los momentos adversos.

A mis abuelos **Aurelia Rivera**, **Manuel Morales†**, **Rosa Mendiola** y **Luis Hernández**, por sus sabios consejos y cuidados desde mi niñez hasta ahora.

A mis tíos **Guadalupe Morales**, **Griselda Morales**, **José Morales**, **Aurelio Morales** y **Eulalio Morales** por su apoyo incondicional y ser la base en el inicio de mi formación profesional.

A mis primos **Daira**, **José**, **Emilse**, **Emanuel**, **Xóchitl**, **Griselda**, **Margarita**, **Marco**, **Manuel**, **Marijo**, **Esmeralda**, **Fátima**, **Helen** y la pequeña **Aurelita** de la familia, por darme momentos de diversión, apoyo y buena compañía.

A todos ustedes, gracias por acondicionar y ofrecer un ambiente familiar acogedor del cual formo parte.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	v
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
HIPÓTESIS GENERAL.....	2
OBJETIVO GENERAL	3
OBJETIVOS PARTICULARES	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Importancia económica de los cítricos	4
Fenología del cultivo	4
Floración	4
Amarre y desarrollo del fruto.....	5
Huanglongbing (HLB) en cítricos	6
Virus de la Tristeza de los Cítricos (VTC)	7
Nutrición en cítricos y su importancia para el control de enfermedades	8
Fertilización foliar en cítricos.....	11
Fertilización mineral dirigida al suelo	11
Fertilización orgánica	12
LITERATURA CITADA.....	13
CAPÍTULO 1. FERTILIZACIÓN INTEGRAL EN ÁRBOLES DE NARANJO ‘MARRS’ EN PRODUCCIÓN CON SÍNTOMAS DE VTC Y HLB.....	19
1.1 RESUMEN.....	19
1.2 ABSTRACT	20
1.3 INTRODUCCIÓN.....	21
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS	23
1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
Incidencia de VTC y HLB.....	27
Floración.....	27
Amarre de fruto.....	29
Rendimiento.....	31
1.6 CONCLUSIONES.....	33

1.7 LITERATURA CITADA	34
CAPITULO 2. ESTATUS NUTRIMENTAL Y FERTILIZACIÓN INTEGRAL DE ARBOLES DE NARANJO ‘MARRS’ CON SÍNTOMAS ASOCIADOS A VTC Y HLB, EN RELACIÓN CON DEFICIENCIAS NUTRIMENTALES EN HOJAS, COMPOSICIÓN MINERAL Y CALIDAD DEL FRUTO	38
2.1 RESUMEN.....	38
2.2 ABSTRACT	39
2.3 INTRODUCCIÓN.....	40
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS	41
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
Estatus nutrimental del árbol	45
Síntomas de deficiencias nutrimentales en hoja.....	51
Composición mineral del fruto	57
Calidad de fruto	61
2.6 CONCLUSIONES.....	67
2.7 LITERATURA CITADA	67
CONCLUSIONES GENERALES.....	72
RECOMENDACIONES	73
ANEXOS	74

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Síntomas de deficiencias nutrimentales en cítricos.	10
Cuadro 1.1. Efecto del grado de síntomas asociados con VTC y HLB y de la fertilización en el desarrollo de flores (número de flores m ⁻² de dosel) en árboles de naranjo 'Marrs' (<i>Citrus sinensis</i> / <i>C. volkameriana</i>) plantados en la parte baja del terreno.....	28
Cuadro 1.2. Efecto del grado de síntomas asociados con VTC y HLB y de la fertilización en el desarrollo de la flor (número de flores m ⁻² de dosel) durante la floración en árboles de naranjo 'Marrs' (<i>Citrus sinensis</i> / <i>C. volkameriana</i>) plantados en la parte alta del terreno.....	29
Cuadro 1.3. Efecto del grado de síntomas asociados con VTC y HLB y de la fertilización en el amarre de fruto (número de frutos por rama) en árboles de naranjo 'Marrs' (<i>Citrus sinensis</i> / <i>C. volkameriana</i>) plantados en las partes baja y alta del terreno.	30
Cuadro 1.4. Efecto del grado de síntomas asociados con VTC y HLB y de la fertilización en el rendimiento (kg de fruto árbol ⁻¹) en árboles de naranjo 'Marrs' (<i>Citrus sinensis</i> / <i>C. volkameriana</i>) plantados en las partes baja y alta del terreno.	32
Cuadro 2.1. Fertilidad del suelo en el huerto comercial de naranjo 'Marrs' (<i>Citrus sinensis</i> / <i>C. volkameriana</i>) en la comunidad de Rancho Nuevo, Cazones de Herrera, Veracruz, México.....	48
Cuadro 2.2. Composición mineral en hojas de naranjo 'Marrs' (<i>Citrus sinensis</i> / <i>C. volkameriana</i>), con tres grados de síntomas asociados a VTC y HLB, en las partes baja y alta del terreno.	48
Cuadro 2.3. Índices DOP y ORN en hojas de naranjo 'Marrs' (<i>Citrus sinensis</i> / <i>C. volkameriana</i>), con tres grados de síntomas asociados a VTC y HLB, en las partes baja y alta del terreno.	48

Cuadro 2.4. Composición mineral del fruto de naranja 'Marrs', cosechados de árboles fertilizados y con síntomas asociados con VTC y HLB en la parte baja del terreno.	60
Cuadro 2.5. Composición mineral del fruto de naranja 'Marrs', cosechados de árboles fertilizados y con síntomas asociados con VTC y HLB en la parte alta del terreno.	60
Cuadro 2.6. Características físicas y químicas de frutos de naranja 'Marrs', cosechados de árboles fertilizados y con síntomas asociados a VTC y HLB, en la parte baja del huerto.....	65
Cuadro 2.7. Características físicas y químicas de frutos de naranja 'Marrs', cosechados de árboles fertilizados y con síntomas asociados a VTC y HLB, en la parte alta del huerto.....	66

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1.** Árboles de naranjo ‘Marrs’ (*C. sinensis* / *C. volkameriana*) asintomáticos (A), con síntomas ligeros (B) y avanzados (C) asociados a VTC y HLB, al inicio del experimento, en Cazones de Herrera, Veracruz, México. 23
- Figura 1.2.** Síntomas de agobio hídrico en hojas (A), frutos cosechados pequeños (B), frutos necrosados asociados a VTC (C), declinamiento en naranjo ‘Marrs’ (D)..... 33
- Figura 1.3.** Caída de frutos en árbol de naranjo ‘Marrs’ (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*) en condiciones de agobio hídrico y síntomas asociados a VTC y HLB, en el sitio experimental ubicado en Cazones de Herrera, Veracruz, México..... 33
-
- Figura 2.1.** Relación entre los índices DOP y el grado de síntoma en árboles de naranjo ‘Marrs’ (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*) en la parte baja del huerto. **1** = Asintomáticos; **2** = Ligero; **3** = Avanzado..... 49
- Figura 2.2.** Relación entre los índices DOP y el grado de síntoma en árboles de naranjo ‘Marrs’ (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*), en la parte alta del huerto. **1** = Asintomáticos; **2** = Ligero; **3** = Avanzado..... 50
- Figura 2.3.** Naranjo ‘Marrs’ clasificado inicialmente con síntomas ligeros, con brotes vegetativos y florales sin síntomas de deficiencias nutrimentales ni asociadas a VTC y HLB, posterior a la fertilización al suelo..... 52
- Figura 2.4.** Efecto de la fertilización química (A) y orgánica (B) foliar en los síntomas de las hojas en árboles de naranjo ‘Marrs’ (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*), durante el amarre y desarrollo inicial del fruto, en Cazones de Herrera, Veracruz..... 52
- Figura 2.5.** Síntomas de deficiencias nutrimentales y, de VTC y HLB en hojas de naranjo ‘Marrs’ (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*), con fertilización química al follaje más la química, orgánica y combinada al suelo, en la parte baja del huerto. 55
- Figura 2.6.** Síntomas de deficiencias nutrimentales y, de VTC y HLB en hojas de naranjo ‘Marrs’ (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*), con fertilización

orgánica al follaje más la química, orgánica y combinada al suelo, en la parte baja. S/A= sin analizar. 56

INTRODUCCIÓN GENERAL

La citricultura, en México representa fuente importante de ingresos para los productores. En Veracruz, se cultivan 167, 884 ha de naranjo, de las cuales 97.85 % son de temporal y 2.14 % de riego. Las principales variedades cultivadas en la entidad son Valencia, y le sigue Washington Navel y Marrs. Los municipios citrícolas más importantes del estado son Álamo Temapache, Papantla, Tihuatlán, Castillo de Teayo, Martínez de la Torre, entre otros (SIAP, 2018). El municipio de Cazonces de Herrera cultiva 3, 275 ha de naranjo, con rendimiento promedio de 14.41 t ha⁻¹ (SIAP, 2018).

En los últimos 11 años, la citricultura en México ha presentado importantes cambios; tras la incidencia progresiva de enfermedades como virus tristeza de los cítricos (VTC), Huanglongbing (HLB), Caquexia y Exocortis (Villegas y Mora, 2011). Los árboles son menos productivos y mueren a edad temprana; si se consideran factores bióticos y abióticos como vectores transmisores de enfermedades, uso de “naranjo agrio” (*Citrus aurantium*) como portainjerto, suelos con pH alcalino, precipitación pluvial irregular con periodos largos de sequía, altas temperaturas y topografía irregular, los árboles son aún más vulnerables a las enfermedades. En huertos citrícolas se observan brotes amarillos alternados en el dosel del árbol; moteados cloróticos, amarillamiento en el margen y nervaduras, ramas secas y defoliadas con frutos pequeños totalmente secos, (Rocha *et al.*, 1995; Esquivel *et al.*, 2012). Diagnósticos realizados mediante índices DRIS en Florida revelan que el HLB genera carencias principalmente de Mg>Mn>Zn>S (Schumann *et al.*, 2019). En Brasil reportan deficiencias de Zn y Mn en árboles positivos a HLB (Beozzo, 2016). Probablemente por el taponamiento de los haces vasculares del floema (Etxeberria *et al.*, 2009; Achor *et al.*, 2010). En situaciones semejantes, países como Brasil y EU han recurrido a medidas de control fitosanitario y manipulación de la nutrición para tratar de atenuar los daños. Se ha vuelto importante el uso de plantas proveniente de viveros certificados con portainjertos tolerantes; en plantaciones citrícolas se integra el sistema de riego con fertilización, árboles sintomáticos son eliminados, el monitoreo de vectores es frecuente y el control es principalmente químico (Beozzo, 2016; Schumann *et al.*, 2019).

En México está poco arraigada la cultura de la prevención, en consecuencia, no hay un eficiente control fitosanitario para reducir la diseminación de enfermedades. Sin embargo, se ha tratado de dar manejo agronómico en árboles sintomáticos a través de poda, fertilización al suelo y follaje, incorporación de enmiendas, control de plagas y enfermedades (Xia *et al.*, 2011). Como resultado, se han visto mejoras en la producción de árboles sintomáticos (Ramírez *et al.*, 2016), en contraste, árboles positivos a HLB sin fertilización, presentan síntomas severos en hojas y rendimiento bajo (Hernández *et al.*, 2014). Para VTC el caso es similar, aunque no se tienen estudios relacionados al estatus nutrimental del árbol y grado de virulencia. Se han observado síntomas en campo que pueden confundirse con deficiencias nutrimentales en hojas jóvenes y maduras de árboles positivos a VTC. Cepas más agresivas provocan marchitamiento repentino, dejando seco al árbol con muchos frutos pequeños adheridos a ramas (Rocha *et al.*, 1995). Sin embargo, existen portainjertos tolerantes como *C. volkameriana* entre otros, que son productivos aún con la presencia de VTC (Quiroga *et al.*, 2010). Por otra parte, “naranja agrio” (*C. aurantium*) como portainjerto no se recomienda (Villegas y Mora, 2011; Rodríguez *et al.*, 2014; Alba, 2016), debido a la susceptibilidad a VTC cuando esta injertado.

Con base en lo anterior, surge como alternativa nutrir eficientemente a los árboles mediante estrategias integrales de fertilización, para hacer frente a HLB y probablemente a razas débiles de VTC. Las plantas que reciben nutrición balanceada de acuerdo a sus requerimientos, presentan mayor tolerancia a patógenos, evitan nuevas infestaciones y limitan las ya existentes (Sandoval y Lolas, 2008). Siguiendo este enfoque, es posible que, en las condiciones de Veracruz, se puedan mitigar los síntomas asociados al complejo de enfermedades con adecuada nutrición a través de la fertilización al suelo y follaje con macro y micronutrientes.

Hipótesis General

La adecuada nutrición en árboles de naranja a través de la aplicación de microelementos (Zn, Mn, B, Fe, Cu) y macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg) al follaje y al suelo puede contribuir a la producción aceptable de frutos en cantidad y calidad, aún con incidencia de VTC y HLB.

Objetivo General

Evaluar el efecto de la fertilización al suelo y foliar con macro y micronutrientes en la producción y comportamiento de los síntomas asociados al Virus Tristeza de los Cítricos (VTC) y Huanglongbing (HLB), en árboles de naranjo 'Marrs'.

Objetivos Particulares

- Evaluar el efecto de la fertilización química, orgánica y combinada al suelo y follaje en árboles de naranjo 'Marrs' (*C. sinensis* / *C. volkameriana*) en producción, con incidencia del Virus Tristeza de los Cítricos (VTC) y Huanglongbing (HLB) confirmados por PCR.
- Estudiar el estatus nutricional de árboles de naranjo 'Marrs' con síntomas asociados a VTC y HLB, y su relación con deficiencias nutricionales en hoja, la composición mineral y la calidad del fruto de árboles fertilizados.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia económica de los cítricos

La citricultura destaca ampliamente en las regiones tropicales y subtropicales, entre los paralelos 40° N y 40° S, en más de 130 países. Puede considerarse como una fruta universal, siendo el cultivo más importante, con una producción global superior a la de árboles caducifolios, como manzano, peral, duraznos y ciruelos (Zhang, 2014). En el género *Citrus spp.*, se incluyen naranja (*Citrus sinensis*), lima 'persa' (*C. latifolia*), mandarina (*C. reticulata*), pomelo (*C. paradisis*) y diversos híbridos que se ubican entre los frutales de mayor consumo e importancia económica (Wu *et al.*, 2018). La producción mundial de cítricos en el 2017 alcanzó alrededor de 133 millones de toneladas, donde las naranjas constituyen el 55 %, la mandarina 25 %, limones y limas 13 % y pomelos 7 %, concentrándose principalmente en China, Brasil, India, México y EE. UU. México ocupa el cuarto lugar en producción de cítricos (FAO, 2019), siendo Veracruz el principal estado productor de naranja y lima 'persa' (Atlas, 2018). El cv. Marrs tiene importancia económica debido al periodo corto de maduración, esto favorece a que el fruto entre al mercado antes que otras variedades de cítricos dulces (Curtí *et al.*, 1998).

Fenología del cultivo

En la región del golfo centro de México, los naranjos tienen de tres a cinco flujos de brotación durante el año, provocadas por temperaturas benignas de finales de invierno y periodos de sequía durante el año, que favorecen el crecimiento y desarrollo del árbol (Moss, 1969, citado por Curtí, *et al.*, 1998). Los árboles de naranjo 'Marrs' son de porte pequeño, moderadamente vigoroso, muy productivo y de madurez precoz. El tamaño del fruto es de mediano a grande con forma redonda o ligeramente achatado, su cáscara es lisa, delgada, color naranja claro, tiene poca o nulas semillas. Debido a que su acidez es baja, alcanza el índice de maduración mínimo exigido precozmente (Curtí *et al.*, 1998).

Floración

Resulta complejo determinar con precisión las fases fenológicas de los cítricos, en naranjos, los periodos de inducción, iniciación y diferenciación floral hasta anthesis varían entre cultivares, por condiciones edafó-climáticas y la interacción injerto-portainjerto. Los periodos de brotación están vinculados con periodos de déficit hídrico y elevadas

temperaturas (León *et al.*, 2009). En el cultivar Marrs la brotación floral inicia en febrero y mediados de marzo y produce el fruto denominado “de tiempo”; posteriormente, en junio se presenta otro flujo reproductivo que produce la “fruta mayera” y la de septiembre como “fruta agostera”, siendo marzo la floración más intensa con 40 a 60 % del total en el ciclo (Medina *et al.*, 2007). La brotación floral se promueve debido a periodo de varias semanas con temperaturas inferiores a 22°C, días de fotoperiodo corto y temperaturas nocturnas de 13 a 18°C (Moss *et al.*, 1969). El desarrollo de la flor de finales de invierno tarda en promedio 35 días desde la apertura de la yema a la caída de estambres y estilo; este periodo es más corto para las flores producidas durante el verano u otoño, cuando la temperatura es más alta (Curtí *et al.*, 1998).

Amarre y desarrollo del fruto

El amarre de frutos de naranja tarda generalmente dos meses después de antesis, en este momento el fruto tiene diámetro de 17 mm (Curtí *et al.*, 1998). El desarrollo del fruto ocurre en tres etapas: 1) división celular que dura cuatro a seis semanas y el crecimiento del fruto es muy reducido; 2) expansión celular, crecimiento rápido del fruto y aumento en tasa de respiración; 3) periodo de maduración, crecimiento lento y disminución de la respiración (Agustí *et al.*, 2003). Durante el desarrollo ocurre el transporte de nutrientes al fruto y semillas. Después de la carga de floema, los nutrientes se exportan a una tasa y concentración por flujo de masas generadas por las diferencias en presiones hidrostáticas generadas en las hojas y puntos de demanda. La presencia de HLB puede afectar seriamente el amarre y rendimiento en cítricos. Los árboles de lima ‘persa’ asintomáticos en promedio tienen 45 frutos por metro cuadrado de dosel, mientras que, en los sintomáticos 37 frutos (Robles *et al.*, 2017). El nivel de daño está en función del porcentaje de severidad y concentración de *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs). En lima ‘persa’, la incidencia ocasiona pérdidas en volumen, peso, contenido de jugo y grosor de la cáscara (Flores *et al.*, 2015). El cv. Marrs en condiciones del trópico seco de México el rendimiento es de 63 kg de fruto por árbol, el peso del fruto es de 289 g, el grosor de cascara es de 4.1 mm, el contenido de solidos solubles totales (SST) es de 9.8 %, acidez de 0.49 %, contenido de jugo de 52.6 %, el índice de madurez (SST % / Acidez %) es de 17.5 (Medina *et al.*, 2007). Este cultivar se caracteriza por tener un periodo de fructificación corto, ya que la cosecha es realizada a mediados de agosto y principios de

octubre; sin embargo, el precio de la fruta en el mercado es importante en la toma de decisión para realizar esta actividad.

Huanglongbing (HLB) en cítricos

Conocida como la enfermedad del brote amarillo, es provocada por la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas). A través de los años, la han denominado como la enfermedad “más devastadora” de los cítricos (Bové, 2006; Cuellar, 2016). Posteriormente se ha denominado como la más seria amenaza para la producción de cítricos en todo el mundo (McCollum *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016). Sin embargo, la bacteria no llega a matar al árbol en corto tiempo como lo hacen otras enfermedades. En los primeros diagnósticos de infecciones de HLB las medidas de control fitosanitarias consistieron en eliminar por completo árboles con prueba positiva o sintomáticos, pero, no fue la mejor estrategia. En algunos países como Brasil comenzaron a convivir con la enfermedad mediante técnicas de manejo agronómico, con base a esto, el impacto mundial con incidencia es de 26 % en comparación con China que es de 100 % y las pérdidas en rendimiento de naranja son de 42 % (Mora *et al.*, 2014). En México, ante un escenario epidémico por HLB, con impacto bajo, podría haber pérdida de 1.84 millones de toneladas de cítricos, equivalente a 25 % de la producción normal. Con impacto alto aumentaría a 3 millones de toneladas afectando principalmente a la naranja y toronja (Salcedo *et al.*, 2010). El daño directo del HLB en los árboles se puede describir mediante análisis histológicos y los síntomas son distintos para diferentes especies de cítricos. En naranjo se describen moteado clorótico asimétrico en la lámina foliar, punteado clorótico hasta amarillamiento y abscisión foliar (Esquivel *et al.*, 2012). En ocasiones pueden presentar hojas con apariencia corchosa y nervaduras dilatadas (Bové, 2006). Se ha observado depósitos de almidón en tejido epidérmico, fundamental y del floema, generando obstrucciones y degeneración del mismo (Etxeberria *et al.*, 2009; Achor *et al.*, 2010), estas obstrucciones generan el taponamiento por calosa en elementos cribosos inhibiendo el transporte de fotoasimilados mostrando en hojas síntomas característicos de la enfermedad (Folimonova y Achor, 2010; Koh *et al.*, 2011). Este bloqueo del flujo del floema por la bacteria, induce síntomas de deficiencias de Zn, Mn, entre otros nutrimentos en hojas. En limón mexicano se ha comprobado que la incidencia de CLas disminuye la eficiencia del fotosistema II, aumenta el contenido de almidón y es

acumulado en forma de gránulos en haces vasculares colapsados (Arce *et al.*, 2019). Específicamente son moléculas de glucosa que no fueron liberadas de los cloroplastos para ser reducidos, y es probable que el depósito de almidón modifique la estructura de los plastidios y se conviertan en amiloplastos con función de almacén de almidón, la clorofila es degradada y se descubren los pigmentos como los carotenos haciendo que se aprecien los síntomas característicos de clorosis. Como alternativa se empezaron a aplicar al follaje diferentes mezclas nutrimentales con formulaciones de macro y micronutrientes, incluyendo la adición de fitohormonas como auxinas y giberelinas, además de inductores de resistencia como ácido salicílico y fosfitos, para reducir la progresión de los síntomas en el follaje de plantas y mantener, o incluso aumentar, el rendimiento de plantas sintomáticas (Beozzo, 2016).

Virus de la Tristeza de los Cítricos (VTC)

Hasta ahora es una de las enfermedades que menos importancia se le ha dado en México para su control y manejo; pero en otras partes del mundo si se le ha dado prioridad, ya que es la principal causa por la cual diferentes especies de cítricos presentan rendimientos bajos y muerte prematura. Su diseminación se ha extendido rápidamente a través de vectores trasmisores del virus tales como *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Quiroga *et al.* 2010) y propagación vegetativa a partir de viveros no certificados. El problema es acentuado con el uso de “naranja agrio” (*Citrus aurantium*) como portainjerto; en combinación con cualquier variedad comercial debido a la susceptibilidad a VTC que este presenta (Villegas y Mora, 2011). Desde los 90's se cultivaban 460 mil ha de cítricos de las cuales aproximadamente 90 % están injertados con *C. aurantium* (Becerril y Flores, 1994; Cruz *et al.*, 2000). Actualmente *C. aurantium* sigue siendo preferido en plantaciones de cítricos por el alto potencial productivo y adaptabilidad a diferentes tipos de suelos. Fue hasta el siglo XX cuando se comprobó la tolerancia a VTC de otras especies de cítricos como limón 'Volkameriana' (*C. volkameriana* Ten. Y Pasp.) superando en altura, diámetro de tallo y concentración de P, K, Mn y Zn a *C. aurantium* (Cruz *et al.*, 2000), además de ser tolerante a exocortis, psorosis, *Phytophthora spp.* y sensible a xiloporosis, tolera suelos calcáreos y resistencia moderada a salinidad. Otros portainjertos tolerantes son lima Rangpur, Citrange troyer, Citrange Carrizo y mandarinas 'Cleopatra' (*C. reshni* Hort. Ex Tan) y 'Amblicarpa' (*C. amblycarpa* Ochse). Los síntomas

dependen de la raza de virus presente en el árbol, razas débiles promueven la formación de hojas pequeñas, con clorosis que pueden confundirse con deficiencias nutrimentales; sin embargo, el desarrollo puede continuar y la planta se recupera parcialmente (Müller *et al.*, 2005). Con razas severas el crecimiento es casi paralizado y en corto tiempo la copa del árbol se defolia por completo, los frutos se quedan pequeños y permanecen unidos a las ramas del árbol. González (1968) indica que la sintomatología en general está asociada a la muerte de las raíces absorbentes con diámetro menor a 1 mm; provocando deficiencias, clorosis en nervaduras y desecaciones de las ramas de las puntas del follaje. Además, floraciones y fructificaciones fuera de épocas y muy alternantes. Actualmente no existen métodos curativos comerciales capaces de erradicar al virus. Por tanto, los métodos deben ser preventivos, como la propagación *in vitro* para obtener plantas de calidad con prueba negativa a VTC o indirecta mediante uso de portainjertos tolerantes y nutrición balanceada del árbol. Además de la pre-inmunización, que consiste en inocular exprofeso una cepa débil que venga a ofrecer protección contra la raza severa, llevando de esta manera un control de síntomas severos de la enfermedad (Souza, 2002).

Nutrición en cítricos y su importancia para el control de enfermedades

El diagnóstico del estatus nutrimental de árboles enfermos a través del análisis foliar, permite definir el papel que puede jugar la nutrición para mejorar su condición. En árboles afectados por HLB diagnosticaron mediante los índices DRIS que el orden de requerimiento nutrimental (ORN) era Mg>Mn>Zn>S>B>K>Fe, siendo el Mg el más limitante, seguido del Mn y el Zn, el S, B, K y Fe también fueron bajos, pero en rangos cercanos al óptimo (Schumann *et al.*, 2019).

Los elementos esenciales son fundamentales no solamente para el crecimiento y desarrollo de las plantas, sino también en las interacciones planta-patógeno a través de su participación en dos mecanismos de resistencia: 1) desarrollo de paredes celulares más gruesas y 2) síntesis de componentes naturales como las fitoalexinas y antioxidantes (Rice, 2007; Dordas, 2009). El Ca⁺² juega papel importante en la formación de silicatos de calcio en la lámina media de la pared celular y funciona como barrera que protegen contra infecciones. Los árboles con niveles bajos de K, Ca y N, muestran mayor

susceptibilidad al ataque por bacterias. La enfermedad del HLB ha sido asociada con desbalances nutrimentales, en su mayoría con el bajo contenido de Zn, Mn, B, Mg y P en hojas de limón mexicano (*C. aurantifolia*) y naranjo 'Valencia' (Ramírez *et al.*, 2016; Manzanilla *et al.*, 2019; Schumann *et al.*, 2019). La carencia de B provoca formación de tejido corchoso a lo largo de las nervaduras de hojas y tallos, como resultado del desarrollo irregular de células, y el Mg promueve acumulación de almidón ya que su hidrólisis, la síntesis de sacarosa y la carga del floema requieren energía y ésta se halla ligada a la actividad del ATP, que depende del magnesio. En estas condiciones no hay partición de fotoasimilados, éstos no llegan al fruto y su tamaño se ve reducido (Agustí, 2003). Con relación a P se ha observado que la presencia de CLAs en el huésped, induce micro ARNS (miARN) que provocan la deficiencia hasta un 35 % con respecto a árboles negativos. La aplicación de fosforo a los árboles reduce los síntomas y mejora el rendimiento de fruto (Zhao *et al.*, 2013).

En cuanto a las deficiencias de Mn y Zn, la aplicación de estos elementos al follaje mejora la condición del árbol, ya que el Zn juega un papel en la activación de enzimas y es precursor del triptófano, el cual es fundamental para la síntesis de auxinas, para la señalización de división y elongación celular. El K⁺ reduce hasta 70 % las enfermedades provocadas por bacterias y hongos; 60 % en plagas como insectos y ácaros; por lo tanto, el suministro adecuado de K comúnmente incrementa la resistencia al ataque de enfermedades y plagas (Hernández *et al.*, 2014).

En cuanto a VTC, los árboles positivos a esta enfermedad, en el campo presentan síntomas visuales similares a las deficiencias de microelementos (González, 1968). La virulencia se ve afectada por el aislamiento de VTC y las condiciones ambientales. Dado que hay cientos de especies de cítricos, la virulencia debe definirse en términos de hospederos específicos, algunos aislamientos causan pocos síntomas (Bové *et al.* 1988). El comportamiento fisiopatológico básico del VTC, consiste en la llegada del virus al árbol ya sea por afidos, o por material de propagación infectado, se moviliza en el flujo de savia elaborada pasando por los haces vasculares, al llegar a la zona de unión entre injerto/portainjerto; si el portainjerto es susceptible como *C. aurantium* entre otros, estos rechazan esa savia elaborada contaminada, si la cepa es débil, la planta deja pasar algo

de savia y las raíces tienen un cierto abastecimiento pudiendo sobrevivir con limitaciones nutricionales que manifiestan la “tristeza”. Si son razas severas, se produce un verdadero rechazo; hay muerte celular provocando oclusión de los vasos conductores, producción de almidón, lo cual altera la nutrición y la planta es desabastecida de nutrientes, agua y síntesis de fitohormonas como citocininas y giberelinas promotoras de crecimiento vegetativo. En consecuencia, el dosel del árbol presenta síntomas por estrés hídrico, conforme avanza la virulencia ocurre defoliación en la copa, y el árbol muere en forma rápida (González, 1968). Los síntomas resultan difíciles de diagnosticar en campo, debido a múltiples factores intrínsecos, como las características del suelo, en condiciones adversas se pueden expresar síntomas comunes por deficiencias nutrimentales como se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Síntomas de deficiencias nutrimentales en cítricos.

Nutrimento	Síntomas
N	Perdida de color verde intenso en hojas, principalmente en hojas cerca del fruto. Amarillamiento en nervaduras. Árboles con escaso vigor y poco follaje. Fruto pequeño. Maduración precoz.
P	Raíces poco desarrolladas, hojas adultas bronceadas sin brillo con necrosis en el margen, se desprenden en floración, abscisión de frutos, corteza del fruto gruesa, separación de los gajos en el centro formando huecos.
K	Hojas de menor tamaño y coloración verde pálida. Frutos pequeños. Caída de hojas después de floración, menor cuajado de frutos. Caída de frutos en desarrollo.
Ca	Raíces poco desarrolladas, en carencia extrema ocurre defoliación.
Mg	Clorosis en el margen de hojas viejas y entre las nervaduras, formando una “V” invertida.
Zn	Hojas de inferior tamaño al resto, de forma estrecha y alargada. Detención parcial del crecimiento de la planta, clorosis en hoja que llegan hasta el margen.
Mn	Clorosis intervenal similar a Zn, pero la clorosis no llega hasta el margen de la hoja.
B	Hojas de color bronceado, coriáceas, nervaduras cloróticas, caída de frutos, muerte de brotes jóvenes.
Fe	Amarillamiento en la superficie foliar, llegando a ser de color marfil o blanco, las nervaduras principales y secundarias son verdes.
Cu	Exudado de goma en ramas jóvenes, brotes curvos y ramas pequeñas.

Amorós, 2003; Soler *et al.*, 2006; Cuellar, 2016.

Fertilización foliar en cítricos

Se realiza cuando es necesario hacer correcciones rápidas de algún elemento, cuando la disponibilidad de agua en el suelo es limitada o cuando se desea mejorar el rendimiento y la calidad del fruto (Smolen, 2012). Las hojas de los cítricos se caracterizan por tener una capa cerosa, la nutrición foliar responde bien por el alto número de estomas en la región abaxial de la hoja (300 estomas por milímetro cuadrado), facilitando la absorción de nutrimentos. La fertilización foliar con macronutrimentos, utilizada complementariamente a la fertilización al suelo, contribuye en la obtención de mayor producción de fruta de naranja 'Valencia' y tangor "Murcott" (Alayon *et al.*, 2014). Generalmente los cítricos establecidos en suelos calcáreos presentan bajos rendimientos, este hecho se relaciona con insuficiente disponibilidad de Fe, lo cual conduce a concentraciones bajas del elemento en la planta y, en casos severos genera amarillamiento en hojas en desarrollo. Las deficiencias se pueden corregir con aplicación de quelatos o microelementos en forma de sulfatos con pH ácido en el agua y adición de coadyuvantes o emulsificantes (Rivera *et al.*, 2008). Aplicaciones de KNO_3 a 2 % o superiores, son eficientes cuando es asperjado durante el verano, pero asperjado en plena floración, si bien estimulan el desarrollo inicial del fruto, dan lugar a efectos transitorios, por lo que no alcanzan a impactar positivamente los parámetros de la cosecha final (García *et al.*, 1980). El uso de silicio (Si) y selenio (Se) asperjado al follaje ayudan en el aumento de rendimiento, reduce la severidad, retrasa el desarrollo de la enfermedad en árboles de lima 'persa' con HLB (Rivera *et al.*, 2012). Aplicaciones foliares de Zn y Mn en naranjo dulce 'Valencia' incrementan significativamente los rendimientos (Rodríguez *et al.* 2014). Aplicaciones foliares con urea baja en biuret (160 g de N por árbol) aplicada días antes de brotación floral aumenta número de flores por metro cuadrado de dosel y rendimiento de frutos (Lovatt, 2000). La fertilización foliar con macronutrientes son técnicas complementarias en los programas de fertilización, diseñados para optimizar el rendimiento (Alayón *et al.*, 2014).

Fertilización mineral dirigida al suelo

No existen recetas para la fertilización de árboles frutales, por tanto, no se sugiere aplicar dosis elaboradas en otras condiciones de estudio, solo pueden ser utilizadas si se tienen los mismos factores de dónde se generó la dosis de fertilización o como referencia. Lo

recomendable es partir del análisis nutrimental del suelo y del tejido vegetal; ambos son fundamentales para diseñar el programa de fertilización. La dosis optima depende de muchos factores, como la edad del árbol, que pueden requerir dosis de 150 g de N, 150 g P y 150 g K cuando tienen cinco años; en etapa productiva se considera el rendimiento meta. Se tiene estimado que para producir 60 kg de fruto por árbol se necesita dosis de 600 g de N, 300 g de P₂O₅, 450 g de K₂O (West Analítica y Servicios, 2018). La fertilización foliar dentro de los programas de fertilización, promueve mayor productividad debido a una mayor eficiencia del fertilizante (Hossain y Ryu, 2009). Aplicación de nutrientes al suelo y follaje, acompañados de prácticas de riego y poda de ramas con síntomas, retardan la enfermedad del HLB y prolongan la etapa productiva en algunas especies de cítricos (Xia *et al.*, 2011). Hernández *et al.* (2014) demostraron que realizando fertilización al suelo y al follaje los árboles son menos afectados por HLB en ramas, mostrando mayor severidad aquellos que no fueron fertilizados.

Fertilización orgánica

Los fertilizantes orgánicos que se han utilizado en cítricos son cascarilla de arroz, melaza, bagazo de molinos azucareros, cachaza, raquis de tallos de banano, cáscara de naranja, estiércol bovino y gallinaza (Rivera *et al.*, 2008; Rivera *et al.*, 2010). La incorporación de materia orgánica ayuda en la disminución de la densidad aparente del suelo, el incremento de la retención de humedad, aumento de materia orgánica, mejora la fertilidad del suelo al incrementar la cantidad de micro-organismos encargados de la descomposición de compuestos orgánicos (Meléndez, 2003). El uso de fertilizantes orgánicos puede aumentar hasta 3 % de materia orgánica, nivel óptimo de acuerdo con la (NOM-021 SEMARNAT-2000) (González *et al.*, 2013). Cuando el contenido de C orgánico, P inorgánico y N total se incrementa, hay mayor cantidad de bacterias como *Azospirillum* y *Azotobacter* (Rivera *et al.*, 2010; González *et al.*, 2013). Salgado *et al.* (2015) generaron programas de fertilización sustentable para plantaciones de cítricos en Tabasco. Llegaron a la conclusión que la fertilización sustentable es ideal para nutrir a los árboles de naranja 'Valencia'. Otros métodos de fertilización orgánica son a través de lombricompost, Bocashi, compost, biol, té de estiércol, entre otros que cumplen el mismo principio de la agricultura orgánica (MCCH, 2010). En el mismo sentido esta "Supermagro", un biofertilizante preparado en condición aeróbica. En tonel de 200 L se

produce la descomposición biológica de los materiales, el resultado son residuos sólidos y líquidos. En árboles frutales se recomienda utilizar asperjado al follaje de 2 a 6 % del concentrado, equivalente a 6 L de biol en 100 L de agua, la dosis alta se recomienda en plantas débiles o enfermas, es preferible combinar con 1 % de urea foliar. La frecuencia de aplicación es cada 12 días hasta antes de floración. El remanente es utilizado como compost incorporado a la zona de raíces con crecimiento activo, la dosis por árbol depende del contenido de materia orgánica del suelo y del contenido de carbono en el compost. Supermagro, actúa como un activador de defensa de la planta, esto permite generar resistencia contra plagas y enfermedades (CORMA, 2018). Los ingredientes que componen este tipo de biol es estiércol fresco (40 kg), agua (140 L), leche (10 L), melaza (10 L), minerales como ZnSO₄ (3 kg), MgSO₄ (1 kg), MnSO₄ (0.3 kg), CuSO₄ (0.3 kg) Clorato de Calcio (2 kg), Bórax (1kg), Molibdato de sodio (0.1 kg) y FeSO₄ (0.3 kg) (Cedepas norte, 2018).

LITERATURA CITADA

- Achor, D., E. Etxeberria, N. Wang, S. Y. Folimonova., K. R. Chung, and G. Albrigo. 2010. Sequence of anatomical symptom observations in citrus affected with Huanglongbing disease. *Plant Pathol. J.* 9: 56-64.
- Agustí, M., A. Martínez F., C. Mesejo, M. Juan., V. Almela. 2003. Cuajado y Desarrollo de los Frutos Cítricos. Generalitat Valenciana. España. 80 p.
- Alayón, L. P., V. Antonio R., A. Beatriz P., M. D. Chabbal, L. Itati G., G. Cristina M. 2014. Fertilización foliar con macronutrientes a plantas de naranja Valencia late (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) y tangor Murcott (*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Rev. FCA UNCUYO* 46(1): 87-96.
- Aliaga, N. 2018. Producción de Biol Supermagro. Cedepas Norte. http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/Manual_de__Bioles_rina.pdf. (marzo 2019).
- Amorós, C. M. 2003. Producción de agrios. 3º Edición. Mundi-prensa, Madrid España. 352 p.
- Arce, L. A. P., N. E. Leyva L., M. A. Santos C., E. A. Rodríguez N., J. Méndez L., M. A. Manzanilla R., M. J. Perea F. 2019. Cambios en el metabolismo de carbohidratos asociados a la infección por *Candidatus Liberibacter asiaticus* en limón mexicano (*Citrus aurantifolia*). *Agrociencia* 53: 593-604.
- Atlas Agroalimentario. 2018. http://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018. (febrero 2020).

- Atlas Agroalimentario. 2018.
https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018. (enero 2019).
- Becerril, R. y R. Flores. 1994. Análisis de la situación frutícola en México. VII Curso Agropecuario 1991. INEGI-C.P. 171 p.
- Beozzo, R. B. 2016. Nutrición y HLB. Newsletter Afinoa, La ciencia al servicio del citrus. n° 11. http://www.afinoa.org.ar/newsletter/News_Afinoa11.pdf. (octubre 2019).
- Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: A destructive, Newly-emerging, century old disease of citrus. *Journal of plant pathology* 88(1):7-37.
- Cedepas Norte. 2018. Manual de bioles Supermagro. http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/Manual_de__Bioles_rina.pdf. (septiembre 2018).
- CORMA. 2018. Elaboración de Supermagro. CET Centro de Educación y Tecnología. http://www.corma.cl/_file/material/elaboracion-de-supermagro.pdf. (septiembre 2018).
- Cruz, H., M. A., E. Olivares S., Zavala G., F. de la Garza G., J. L. Padrón C. 2000. Efecto de patrones de cítricos tolerantes al virus tristeza de los cítricos en el contenido nutrimental en naranja 'Valencia' (*Citrus sinensis* Osbeck). Tesis de grado. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Cuellar, N. A. 2016. Cultivo y explotación de cítricos. Grupo Latino Editores S.A.S primera edición. Colombia. 549 p.
- Curtí, D. S. A., U. Díaz Z., X. Loredó S., J. A. Sandoval R., L. Pastrana A. y M. Rodríguez C. C. 1998. Manual de producción de naranja para Veracruz y Tabasco. Libro técnico No. 2. CIRGO. INIFAP. SAGAR. 175 p.
- Dordas, C. 2009. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture: A review. In. E. Lichtfouse et al. (eds.), Sustainable Agriculture, pp. 443-460. DOI 10.1007/978-90-481-2666-8_28, Springer Science Business Media B.V. – EDP Sciences.
- Esquivel, C. F., G. Valdovinos P., G. Mora A., R. Gómez J., J. J. Velázquez M., A. Manzanilla R., J. L. Flores S., J. I. López A. 2012. Análisis histológico foliar de cítricos agrios y naranja dulce con síntomas ocasionados por *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Agrociencia* 46: 769-782.
- Etxeberria, E., P. González, D. Achor, and G. Albrigo. 2009. Anatomical distribution of abnormally high levels of starch in HLB-affected Valencia orange trees. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 74: 76-83.
- FAO (Food and Agriculture Organization). Faostat. Food and agriculture data. 2019. <http://www.fao.org/faostat/en/>. (febrero 2020).
- Flores, S. J. L., G. Mora A., E. Loeza K., J. I. López A., S. Domínguez M., G. Acevedo S., P. Robles G. 2015. Perdidas en producción inducida por *Candidatus Liberibacter asiaticus* en Limón Persa, en Yucatán México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 33: 195-210.

- Folimonova, S. Y., and S. D. Achor. 2010. Early events of citrus greening (Huanglongbing) disease development at the ultras structural level. *Phytopathology* 100: 09-49.
- García, M. F, Agustí M, Barberá J y Guardiola JL. 1980. Potasio y desarrollo inicial del fruto en la variedad de naranjo Navelate. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 20: 257-272.
- González, M., A. Ma. del C. Rivera C., C. F. Ortiz G., J. J. Almaraz S., A. Trujillo N., G. Cruz N. 2013. Uso de fertilizantes orgánicos para la mejora de propiedades químicas y microbiológicas del suelo y del crecimiento del cítrico Citrange troyer. *Universidad y Ciencia Trópico Húmedo*, 28(2). 123-139
- González, S. E. 1968. El cultivo de los agrios. *Rustica* 3ª, España. 813 p.
- Guardiola, J. L., Agustí M., Barberá J. y García M. F. 1980. Influencia de las aplicaciones de ácido giberélico durante la brotación en el desarrollo de los agrios. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.* 20: 139-143.
- Hernández, F. L. M., M. A. Urrutia L., R. Gómez J., J. I. López A., J. J. Velázquez M. y M. Orozco S. 2014. El Huanglongbing y su vector *Diaphorina citri* en Limón Persa en Nayarit: Recomendaciones para su Manejo. Santiago Ixcuintla, Nayarit, México. Libro Técnico Núm. 3. 82 p.
- Hossain, M. B., S. Ryu K. 2009. Effect of foliar applied phosphatic fertilizer on absorption pathways, yield and quality of sweet persimmon *Scientia Horticulture*. 122: 626-632.
- Koh, J. E., L. Zhou, D. S. Williams, J. Park, N. Ding, Y. P. Duan, and B. H. Kang. 2011. Callose deposition in the phloem plasmodemata and inhibition of phloem transport in citrus leaves infected with "Candidatus Liberibacter asiaticus". DOI 10.1007/s00709-011-0312-3.
- León, M., M. Pérez M., E. Soto, L. Avilan y Ma. A. Gutiérrez. 2009. Fenología de la naranja 'Valencia' sobre tres patrones en Yumare, estado Yaracuy, Venezuela. *UDO Agrícola* 9 (2): 347-355.
- Lovatt, C. J. 2000. Management of foliar fertilization. *Terra* 7(3): 258-264.
- Manzanilla, R. M. A., A. Villegas M., J. J. Velázquez M., H. A Zavaleta M., M. Sandoval V. y A. Muñoz O. 2019. Cambios fisiológicos en árboles de limón mexicano en producción infectados con HLB. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7(10): 1603-1614.
- MCCH, E. A., 2010. Fertilización orgánica. primera ed. Ecuador: María Jesús Pérez, Equipos Agrícolas MCCH. pp.1-17.
- McCollum, G.; Hilf, M.; Irej, M.; Luo, W. and Gottwald, T. 2016. Susceptibility of sixteen citrus genotypes to 'Candidatus Liberibacter asiaticus'. *Plant Dis.* 6(100):1080-1806.
- Medina, U. V., Zapiaín E. G., Robles G. M., Pérez Z. O., Orozco S. M., W. T. Becerra R. S. 2007. Fenología, eficiencia productiva y calidad de fruta de cultivares de naranjo en el trópico seco de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30(2): 133-143.
- Meléndez, G. 2003. Residuos orgánicos y material orgánica del suelo. En: Meléndez G. y Soto G. (eds.). Taller de abonos orgánicos. CANIAN/GTZ/UCR/CATIE. Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA). Sabanillas, Costa Rica 119-174.

- Mora, A. G., P. Robles G., J. López A., L. Flores S., G. Acevedo S., S. Domínguez M., A. Gutiérrez E., E. Loeza K. y R. Gonzales G. 2014. Situación Actual y Perspectivas del Manejo del HLB de los Cítricos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 2(32):108-119.
- Moss, G. I. 1969. Influence of temperature and photoperiod on flower induction and inflorescence development in sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *J. Hort. Sci.*, 44:311-20.
- Müller, G. W., M. L. Penteadó N. T., S. Alves C., A. Alves de S. e J. C. Verle R. 2005. Doenças de citros causadas por vírus e viróides. *In: CITROS*. D. D. M. Junior, J. D. D. Negri, R. M. Pio e J. P. Junior., (eds). Intermídia Produções Gráficas. São Paulo, Brazil: pp. 567-604.
- Quiroga, C. J., F. L. Hernández P., S. H. Ma. Del Rosario, Orduz R. J. 2010. Comportamiento de la producción de lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka), injertada sobre patrón de Mandarina Cleopatra (*Citrus reticulata* Blanco) y la influencia del virus de la tristeza (CTV) en condiciones del piedemonte del Meta, Orinoquia 14(1):5-15.
- Ramirez, D., J. Chaparro, A. Ritenour M., A. Wright, B. Boman, B. Gruber, S. Marino. 2016. Mitigation of Huanglongbing Effects on Grapefruit Trees Using Enhanced Nutritional Programs. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 129:51-55.
- Rice, R. W. 2007. The Physiological Role of Minerals in the Plant. *In*. L.E. Datnoff. (Ed.) Mineral nutrition and plant disease. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota U.S.A. pp. 9-29.
- Rivera, C. M. C., Trujillo N. A., Alejo P. D. E. 2010. Los biofertilizantes integrados con bacterias fijadoras de N, solubilizadoras de P y sustratos orgánicos en el crecimiento de naranjo agrio *Citrus aurantium* L. *Interciencia*. 35(2): 113-119.
- Rivera, C. M. C., Trujillo N. A., Córdova B. G., Kohler J, Caravaca F, Roldán A. 2008. Poultry manure and banana waste are effective biofertilizar carrier for promoting plant growth and soil sustainable in banana crops. *Soil Biology & Biochemistry* 40(12): 3092-3095.
- Rivera, E. F., Virgen C. G., Medina U. V., De la Paz G. S., Sánchez H. C.V. 2012. Uso de Sílice y Selenio en el manejo de HLB en Limón Persa. Universidad de Guadalajara. UCBA.
- Rivera, O. P., J. D. Etchevers B., Claudia Hidalgo M., B. Castro M., F. de la Garza M. J. Rodríguez A. y A. Martínez G. 2008. Fertirrigación acida de hierro en cítricos establecidos en suelos calcáreos. *Terra Latinoamericana* 26 (2): 119 - 125.
- Robles, G., M. M., M. Orozco S., M. A. Manzanilla R., J. J. Velázquez M., S. H. Carrillo M. 2017. Efecto del HLB sobre el rendimiento de limón mexicano en Colima, México. *Revista mexicana de Ciencias Agrícolas*. 8 (5): 1101-1111.
- Rocha, P., M. A., R. F. Lee, R. Lastra, C. L. Niblett, F. M. Ochoa, C. Garsey, and R. K. Yokomi. 1995. Citrus Tristeza Virus and its aphid vector *Toxoptera citricida*. Threats to citrus production in the Caribbean and central and North America. *Plant Disease* 79: 437-445.

- Rodríguez, V. A., S. C. Cabrera B., G. C. Martínez, M. D. Chabbal y. S. Matilde M. 2014. Fertilización foliar con zinc y manganeso en huertos de naranjo 'Valencia late'. *Cultivo Tropicales* 35(4): 100-105.
- Salcedo, B. D., R. Hinojosa A., G. Mora A., I. Covarrubias G., F. J. R. De Paolis, J. S. Mora F., C. L. Cíntora G. 2010. Evaluación del Impacto Económico de la Enfermedad de los Cítricos Huanglongbing (HLB) en la Cadena Citrícola Mexicana. Kavers S.A. de C.V. México, D.F. 16 p.
- Salgado, G. S., D. J. Palma L., J. Zavala C., S. Cordoba S., M. Castelán E., L. del C. Lagunés E., C. F. Ortiz G., Ma. del C. Rivera C., F. Ventura U., Á. Marín A. 2015. Programa de fertilización sustentable para plantaciones de cítricos en Tabasco, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 3(9): 345-356.
- Sandoval, B. C., M. Lolas C., 2008. Estado nutricional de las plantas y su incidencia en la expresión de enfermedades. En Juan H. C. Diagnostico nutricional y principios de fertilización en frutales y vides. Ed. Chilla, Chile. Instituto de investigaciones agropecuarias, centro regional de investigación Quilamapu. 142 p.
- Schumann, A., L. Waldo, T. Vasisth, A. Wright y K. Morgan. 2019. Critical leaf nutrient thresholds to diagnose deficiencies in HLB trees. *Citrus Industry News*. Vol. 10, Issue 16.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SIAP. (2018). Producción anual. Cierre de la producción agrícola por cultivo. www.siap.gob.mx. (enero 2019).
- Smolen, S. 2012. Foliar nutrition: Current State of Knowledge and Oportunities. In: A. K. Srivastava, ed. *Advances in Citrus Nutrition*. New York: Springer. 475 p.
- Soler, A. J., Soler F. G. 2006. Cítricos. Variedades y técnicas de cultivo. Mundi-prensa, Barcelona. 242 p.
- Souza, A. A. 2002. Stability of the mild protective 'PIAC' isolate of CTV. In: INT. ORG. CITRUS VIROL. 15., 2001, Paphus. Proceeding. Riverside: IOCV and University of California Press, 2002. pp. 131-135.
- Villegas, M. A., J. A. Mora A. 2011. Avances de la fruticultura en México. *Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal - SP, Volumen Especial*, E. 179-186.
- Wang, Y., Zhou L., Yu X., Stover E., Luo F. and Duan Y. 2016. Transcriptome profiling of Huanglongbing (HLB) tolerant and susceptible citrus plants reveals the role of basal resistance in HLB tolerance. *Plant Sci.* 7:933. doi:[10.3389 / fpls.2016.00933](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00933). (febrero, 2019).
- West Analítica y Servicios. 2018. Agricultura Razonada®. West Analítica y Servicios S.A. de C.V. <http://westanalitica.com.mx/wp-content/uploads/2018/05/EI-Cultivo-de-CI%CC%81TRICOS.pdf>. (marzo 2019).
- Wu, G. A., Terol J., Ibanez V., López G. A., Pérez R. A., Boredá C., ... and Talon M. 2018. Genomics of the origin and evolution of citrus. *Nature*. 554: 311-316.
- Xia, Y., G. Ouyang, R. A. Sequeira, Y. Takeuchi, I. Baez, and J. Chen. 2011. A review of Huanglongbing (citrus greening) management in citrus using nutritional approaches

in China. Online. Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2010-1003-01-RV. (enero 2019).

Zhang, J. 2014. *Lasiodiplodia theobromae* in Citrus fruit (Diplodia Stem-Esd Rot) in: Postharvest Decay: control strategies Ed. Silvia Bautista-Baños. Academic Press. Elsevier. Instituto Politecnico Nacional. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Yautepec Morelos, México.

Zhao, H., Ruobai S., Ute A., Chellappan P., Airon W., Michael D. C., Thomas G., Zonghua W., Timothy J. C., Mikeal R., Raymond K. Y., Svetlana F., Georgios V., Robert R., Kim D. B. and Hailing J. 2013. Small RNA Profiling Reveals Phosphorus Deficiency as a Contributing Factor. Symptom Expression for Citrus Huanglongbing Disease. *Molecular Plant*. 6 (2): 301-310.

CAPÍTULO 1. FERTILIZACIÓN INTEGRAL EN ÁRBOLES DE NARANJO ‘MARRS’ EN PRODUCCIÓN CON SÍNTOMAS DE VTC Y HLB

1.1 RESUMEN

En México, la citricultura es amenazada por la incidencia de enfermedades que afectan la producción. El control de vectores, uso de portainjertos tolerantes y programas de fertilización se emplean como alternativas para atenuar los daños y mantener productivos a los árboles. El objetivo fue evaluar el efecto de la fertilización química, orgánica y combinada al suelo y follaje en árboles de naranjo ‘Marrs’ (*C. sinensis* / *C. volkameriana*) en producción, con incidencia del virus tristeza de los cítricos (VTC) y Huanglongbing (HLB) confirmados por PCR. El estudio inició el 7 de agosto de 2018 en una plantación comercial con árboles de seis años, con manejo de temporal, por la topografía irregular del terreno se trabajó en la parte baja y alta del huerto, con tres grados de síntomas asociados a VTC y HLB, en Cazones de Herrera, Veracruz, México. El diseño experimental utilizado fue parcelas divididas en bloques al azar con tres repeticiones. Las variables fueron incidencia de VTC y HLB, floración, amarre de fruto y rendimiento. La mayor incidencia para VTC fue de 47 % y para HLB de 64.7 % en la parte baja del huerto. Los árboles asintomáticos y con síntomas ligeros de VTC y HLB presentaron mayor floración y amarre de fruto. La fertilización química (100 N–22 P₂O₅–195 K₂O–30 MgO) y combinada (50 % química más 10 kg de compost) al suelo y follaje (integrada con sulfato de zinc, hierro, cobre, manganeso y bórax) incrementaron la floración hasta 96 flores por metro cuadrado de dosel en la parte alta del huerto, y 89 frutos amarrados por rama principal. La falta de lluvia provocó severo agobio hídrico, que afectó la respuesta de los árboles a los tratamientos durante el desarrollo del fruto, por lo que el rendimiento fue muy bajo de 4 a 6 kg por árbol en la parte baja del huerto y de 2 a 12 kg en la parte alta. La incidencia y severidad de VTC y HLB, aunado al estrés hídrico están limitando la producción de naranjo ‘Marrs’.

Palabras clave: *Citrus sinensis*, fertilización, producción, síntomas de VTC y HLB.

1.2 ABSTRACT

In Mexico, citrus farming is threatened by the incidence of diseases that affect production. Vector control, use of tolerant rootstocks, and fertilization programs are used as alternatives to mitigate damage and keep trees under production. The objective was to evaluate the effect of chemical, organic and combined fertilization on the soil and foliage of 'Marrs' (*C. sinensis* / *C. volkameriana*) orange trees under production, with incidence of citrus tristeza virus (CTV) and Huanglongbing (HLB) confirmed by PCR. The study began on August 7, 2018 with a six years commercial rain fed plantation. Due to the irregular topography of the terrain, work was carried out in the lower and high parts of the orchard, with three degrees of symptoms associated to CTV and HLB, in Cazonas de Herrera, Veracruz, Mexico. The experimental design used was plots divided into random blocks with three replications. Variables were incidence of CTV and HLB, flowering, fruit set and yield. The highest incidence for CTV was of 47% and HLB of 64.7% in the lower part of the orchard. The asymptomatic trees with slight symptoms of CTV and HLB presented greater flowering and fruit set. Chemical fertilization (100 N – 22 P₂O₅ – 195 K₂O – 30 MgO) and combined (50% chemical plus 10 kg of compost) to the soil and foliage (a mixture of zinc, iron, copper, manganese sulfate and borax) increased flowering. Up to 96 flowers per square meter of canopy in the upper part of the orchard, and 89 fruits set by the main branch. The lack of rain caused severe water stress, affecting the response of the trees to the treatments during the development of the fruit, so that the yield was very low of 4 to 6 kg per tree in the lower part of the orchard and of 2 to 12 kg in the upper part. The incidence and severity of CTV and HLB, coupled with water stress are the limiting factors of 'Marrs' orange production.

Keywords: *Citrus sinensis*, fertilization, production, incidence of CTV and HLB.

1.3 INTRODUCCIÓN

La producción de cítricos es fuente importante de ingresos a nivel nacional. Veracruz es el principal estado productor en México, con 169,500 ha. Las principales variedades cultivadas de naranjo en la entidad son Valencia, Washington navel y Marrs. El rendimiento promedio es de 15 t ha⁻¹; sin embargo, en los últimos seis años, se ha observado reducción del rendimiento de 19 a 10 t ha⁻¹ en la variedad Marrs (SIAP, 2018). Debido al inadecuado manejo agronómico en general, los factores abióticos adversos como elevado pH, niveles bajos de nutrimentos, falta de humedad y temperaturas altas (Agustí, 2003; Srisvastavas, 2012); además, los factores biológicos como la presencia de plagas y el complejo de enfermedades (Müller *et al.*, 2005; Cuéllar, 2016).

Recientemente en huertos citrícolas de Veracruz se ha observado amarillamiento de brotes, declinamiento y muerte prematura de los árboles, síntomas relacionados principalmente con la incidencia del virus tristeza de los cítricos (VTC), cada vez con mayor distribución en la región centro-norte de Veracruz (Contreras *et al.*, 2019). Otros problemas fitopatológicos presentes son: el complejo Huanglongbing (HLB), Caquexia y Exocortis (Villegas y Mora, 2011). La dispersión de *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas), agente causal del HLB, y VTC es favorecida por la compra y establecimiento de material propagativo no certificado, por vectores transmisores de enfermedades y manejo deficiente de los vectores alados que transmiten ambas enfermedades (Villegas y Mora, 2011). El uso de “naranjo agrio” (*C. aurantium*) como portainjerto ocasiona que los árboles sean más vulnerables al VTC (Contreras *et al.*, 2019). Además, la reducción de precipitación pluvial y la presencia de temperatura alta durante las etapas críticas de mayor demanda de nutrimentos y carbohidratos probablemente acentúan la expresión de los síntomas. La infección por VTC (Müller *et al.*, 2005) y CLas (Achor *et al.*, 2010) impiden el uso eficiente de los nutrimentos al inducir taponamiento de los haces vasculares del floema durante la patogénesis, llegando a generar desbalances nutrimentales (Lacroix *et al.*, 2017) por Zn y Mn (Arce *et al.*, 2019). Se ha observado que la infección por CLas reduce el desarrollo de raíces (Hamido *et al.*, 2019), y número de frutos por metro cuadrado de dosel; y en su madurez fisiológica, el peso, tamaño y cantidad de jugo son menores, por lo tanto, el rendimiento y calidad de frutos son bajos (Robles *et al.*, 2017). La virulencia del VTC, está en función de las condiciones

ambientales y de las variantes de razas presentes (Müller *et al.*, 2005). En las razas débiles, el transporte de nutrimentos es limitado y el árbol se recupera parcialmente, cuando son severas el crecimiento se detiene debido a la muerte de raíces absorbentes y, aparecen deficiencias similares a Zn y Mn (Gonzales, 1968), Así mismo, el metabolismo del N es afectado negativamente (Srisvastavas, 2012), provocando formación de hojas pequeñas (Müller *et al.*, 2005); floración alternante y fructificación fuera de época (Gonzales, 1968). Cuéllar (2016) observó que la floración de naranjos infectados por VTC puede ser precoz y abundante, aunque con bajo amarre de fruto, pudiendo quedar estos últimos totalmente secos, con apariencia marrón u oscuro, y adheridos a las ramas secas durante la fructificación. La infección combinada de CLas y VTC pueden ejercer efecto sinérgico en el debilitamiento del árbol; debido a que altera la expresión normal de genes relacionados con la formación de la pared celular, transporte de nutrimentos y proteínas que intervienen en la síntesis de sacarosa y formación de floema (Fu *et al.*, 2017). Los esfuerzos recientes de investigación en HLB, se han centrado en corregir las deficiencias de nutrientes para mantener la viabilidad productiva de los árboles afectados (Schumann *et al.*, 2019). Por ejemplo, la fertilización con N, P y K al suelo combinada con la aplicación de N, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn y Cu al follaje en árboles de mandarina (*C. reticulata*) reduce significativamente la expresión de síntomas de HLB (Pustika *et al.*, 2008). El manejo agronómico integrado con prácticas de riego, poda de ramas y fertilización al suelo también mitiga los síntomas (Xia *et al.*, 2011). En México, son inexistentes los trabajos que se han realizado para manejar al VTC con mejoras en la nutrición. Se ha documentado que, la aspersion de Zn y Mn incrementa el rendimiento del naranjo 'Valencia' (Rodríguez *et al.*, 2014). También, la aplicación combinada de sulfato de amonio, fosfato monoamónico y nitrato de potasio al suelo y follaje aumenta la producción de frutos de las variedades Valencia y tangor Murcott (*C. reticulata* Blanco x *C. sinensis* (L.) Osbeck) (Alayon *et al.*, 2014). Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización química, orgánica y combinada al suelo y follaje en árboles de naranjo 'Marrs', injertado en *C. volkameriana* en producción, con incidencia del virus tristeza de los cítricos (VTC) y Huanglongbing (HLB) confirmados por PCR.

1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de estudio y material vegetal. El estudio se realizó en un huerto de árboles de naranjo de la variedad Marrs (*C. sinensis* / *C. volkameriana*), de seis años, en condiciones de temporal, en la comunidad de “Rancho Nuevo” en Cazones de Herrera, Veracruz, México (20° 40' 32" LN y 97° 12' 44" LW y altitud de 15 m). El suelo es franco, con alto contenido de carbonatos de calcio (35 a 40 %) y pH de 7.9. La temperatura media anual es de 23 °C y precipitación anual de 1314 mm. La topografía del huerto es ladera irregular, por lo que se seleccionaron árboles en la parte baja y alta del terreno, en función de tres grados de síntomas visuales asociados a VTC y HLB: (asintomáticos, ligero, y avanzado). Los árboles asintomáticos no presentaron deficiencias nutrimentales visibles, el dosel fue denso y vigoroso. Los árboles con síntomas ligeros mostraron dosel denso con clorosis internerval y en algunos casos moteados cloróticos en hojas jóvenes y maduras. Los árboles con síntomas avanzados presentaron declinamiento general (ramas secas, defoliación, clorosis internerval, moteado clorótico en hojas jóvenes y maduras, así como frutos totalmente secos del ciclo anterior) (Figura 1.1). En agosto de 2018, durante el desarrollo de frutos, se realizó poda sanitaria, para eliminar ramas dañadas y enfermas. Para esta actividad se utilizaron tijeras de podar FELCO® 2, tijerones de mango largo STIHL® y serrucho para podar TRUPER®. Las herramientas fueron desinfectadas con Timsen® al terminar la poda de un árbol. El febrero de 2019, en el inicio de la brotación vegetativa y floral, se aplicó Actara® a razón de 25 g 100L⁻¹ de agua asperjado al follaje para el control de afidos en general y *Diaphorina citri* Kuwayama; en junio se aplicó HEAT® (15 g 100L⁻¹ de agua) dirigido a las arvenses de hoja ancha y angosta, con motobomba con capacidad de 12 L.



Figura 1.1. Árboles de naranjo ‘Marrs’ (*C. sinensis* / *C. volkameriana*) asintomáticos (A), con síntomas ligeros (B) y avanzados (C) asociados a VTC y HLB, al inicio del experimento, en Cazones de Herrera, Veracruz, México.

Diseño de tratamientos y experimental. Se probaron seis tratamientos de fertilización, resultantes de los factores de estudio: 1) fertilización al suelo a tres niveles, química (FQS), orgánica (FOS) y la combinada (FCS) y 2) fertilización foliar a dos niveles, química (FQF) y orgánica (FOF), en un diseño experimental de parcelas divididas en bloques al azar ($y = \mu + \beta_k + A_i + \varepsilon_{ik} + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ijk}$) con tres repeticiones. La parcela grande fue la fertilización foliar y la parcela chica fue la fertilización al suelo. La unidad experimental fue un árbol de naranjo y la integración de los bloques se realizó con base a cada grado de síntomas asociados a VTC y HLB: 1) asintomáticos, 2) ligeros y 3) avanzados.

Se realizaron muestreos de suelo (MS) y hojas (MH) para análisis de nutrimentos e incidencia de patógenos (MP). El MS se realizó en julio de 2018, durante el desarrollo de frutos; se obtuvieron dos muestras constituidas por una mezcla compuesta de 10 submuestras de suelo recolectadas en zigzag en la zona de raíces del árbol a 30 cm de profundidad para cada parte del huerto. El MH y MP se realizaron en noviembre de 2018, posterior a la cosecha del ciclo 2017-2018; ambos fueron dirigidos a árboles asintomáticos, con síntomas ligeros y avanzados en cada parte del huerto. En el caso del MH, se obtuvieron seis muestras compuestas por seis árboles (una por grado de síntomas, tres por estrato) del cuarto nudo del tallo a partir del ápice, a 1.60 m de altura y distribuida en los cuatro puntos cardinales del árbol. El análisis se realizó en el laboratorio de Fertilab®, en Celaya, Guanajuato, México y se determinó el contenido de N, P, K, Ca, Mg en %, Fe, Zn, Mn, Cu y B en ppm. Los resultados del análisis de suelo y de las hojas se usaron para conocer el suministro del suelo y el requerimiento nutrimental de los árboles y diseñar el programa de fertilización; que incluyó la aplicación de S elemental al suelo a razón de 400 g árbol⁻¹. Para el MP fueron 36 muestras en total, 18 por estrato, cada árbol fue una muestra, que consistió en recolectar ocho hojas (dos por orientación cardinal), las cuales se etiquetaron y trasladaron a laboratorio. Se realizó extracción de ácidos nucleicos de acuerdo al protocolo de extracción de ADN de Dellaporta (1983), la concentración y pureza de los ácidos nucleicos se verificaron con NanoDrop™ 2000 Spectrophotometer (Accesolab^R). Para la detección de VTC se realizó RT-PCR punto final, con los iniciadores CPKF (5'AACGCCCTTCGAGTCTGGGGTAGGA3') y CPKR

(5'TCAACGTGTGTTGAATTTCCCAAGC3') (Rivas *et al.*, 2008). Y PCR directa para CLas con los iniciadores O11 (GCGCGTATGCAATACGAGCGGCA) y O2c (GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT) (Jagoueix *et al.*, 1996). Los productos de PCR obtenidos del virus y bacteria se visualizaron en gel de agarosa a 2 % adicionado con bromuro de etidio a 88V durante una hora. El gel se observó y fotografió en un transiluminador QUANTUM ST5® (Vilver Lourmat). Las muestras que resultaron positivas se enviaron a Macrogen Corp. (Corea del Sur). Cada muestra fue secuenciada en ambas direcciones. Las secuencias fueron ensambladas con el programa DNA BASER. Se realizó la comparación de las secuencias mediante el Basic Local Alignment Search Tool (BLAST®), con las del Centro Nacional de Información de Biotecnología (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) y coincidieron en 100% de identidad con *Citrus tristeza virus* y *Candidatus Liberibacter asiaticus*.

Fertilización Química al Suelo (FQS). Esta se basó en la fórmula 100 N – 22 P₂O₅ – 195 K₂O – 30 MgO para rendimiento meta de 25 t de fruto ha⁻¹. Para su aplicación se usaron los fertilizantes comerciales sulfato de amonio con 20 % de N y 24 % de S; fosfato diamónico o DAP con 18 % de N y 46 % de P₂O₅; sulfato de potasio con 52 % de K₂O y 18 % de S, y sulfato de magnesio con 16.6 % de MgO y 13 % de S. Las dosis por árbol fueron dos aplicaciones, una con 600 g de sulfato de amonio + 120 g de DAP + 468.75 g de sulfato de potasio + 225.5 g de sulfato de magnesio y la otra con 542 g de sulfato de amonio + 468.75 g de sulfato de potasio + 225.5 g de sulfato de magnesio. La **Orgánica (FOS)** consistió en la aplicación de compost que contenía 0.06 % NO₃, 0.18 % P₂O₅, 1.12 % K₂O, 0.13 % MgO, 0.39 % CaO y 17 % de materia orgánica (MO). La dosis se calculó con base al contenido más bajo de MO del suelo que fue de 1.95 %, para incrementarlo a 2 %, que es el adecuado para suelos de origen no volcánico, de acuerdo con la NOM-021 SEMARNAT-2000. La dosis por árbol fue 10 kg de compost. La **Combinada (FCS)** consistió en aplicar el 50 % de la FQS y el 100 % de la FOS; es decir, se aplicó la fórmula 50 N – 22 P₂O₅ – 98 K₂O – 15 MgO más 10 kg de compost árbol⁻¹. La fertilización química, orgánica y combinada al suelo se fraccionaron en dos aplicaciones; el 14 de diciembre de 2018, enseguida de la cosecha, se hizo la primera aplicación en la mitad del área de goteo; la segunda se hizo durante el desarrollo

intermedio de frutos que fue el 6 de julio de 2019 en la otra mitad del área de goteo e incorporados a profundidad de 30 cm.

Fertilización Química Foliar (FQF). Consistió en una solución nutritiva a base de sulfato de zinc (35.5 % de Zn), bórax pentahidratado (20.5 % de B), sulfato de hierro (20 % de Fe), sulfato de manganeso (27 % de Mn) y sulfato de cobre pentahidratado (25 % de Cu); la concentración fue de 1 gL⁻¹ respectivamente. Se adicionó DAP-PLUS® a razón de 1 mL⁻¹ de solución para acidular a pH de 5.4 y CE = 2.42 dSm⁻¹. La **Orgánica (FOF)** fue el biol “Supermagro” elaborado en la región de estudio, el cual contenía 0.009 % de NO₃, 1.24 ppm de PO₄, 0.33 % de K, 0.17 % Ca, 0.11 % Mg, 0.21 % Zn, 0.06 % B, 0.02 % Cu, 0.02 % Fe y 0.0037 % Mn, la concentración fue de 33.33 ml L⁻¹. El biol tuvo C.E. de 34.2 dSm⁻¹ y pH de 4.95. En total, se realizaron cuatro aplicaciones de fertilización química y orgánica al follaje a dosis de 500 ml árbol⁻¹ cada 15 días, empezando durante la fase de brotación vegetativa y floral y, se concluyó en la etapa de amarre inicial de fruto; para su aplicación, se usó motobomba SOLO® con capacidad de 12 L.

Variables: Incidencia de VTC y HLB, del total de las muestras positivas al virus y la bacteria obtenidas en el laboratorio, se determinó el porcentaje de incidencia presente y se comparó la distribución entre los dos estratos del huerto, **floración**, con un marco de madera de 40 x 50 cm se delimitó el área del dosel a evaluar. Se contó el número de flores cada 15 días a partir del 25 de enero (inició la floración), finalizando el 15 de abril de 2019 (fin de la floración) en las orientaciones este y oeste del dosel a 160 cm de altura. Los datos se presentaron como número de flores m⁻² de dosel; **amarre de fruto**, en ramas estructurales con brotes de segundo, tercer y cuarto orden, se registró el número de frutos en formación 15 días después de anthesis (DDA); **rendimiento**, en la cosecha realizada el 2 de octubre de 2019, se registró el peso del total de frutos por árbol, usando una báscula digital Torrey®.

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SAS versión 9.4 para Windows. A cada variable se le realizó un ANOVA, comprobación de los supuestos de normalidad, homogeneidad de varianzas y comparación de medias con la prueba de Tukey con $\alpha = 0.05$.

1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Incidencia de VTC y HLB

La incidencia de VTC fue 47 % y de HLB 64.7 % en la parte baja del huerto. En contraste, en la parte alta fue 17.64 % y 29.41 % respectivamente; en general es elevada, ya que es probable que en el siguiente año sea cercana a 100 % debido a la infección progresiva que se observa como tendencia en la región centro norte de Veracruz (Contreras *et al.*, 2019). El potencial de dispersión del HLB está en función del vector, factor viento, y disponibilidad del hospedante (Mora *et al.*, 2014). Razones por la cual hubo mayor incidencia en los árboles de la parte baja, debido a que hay mayor disponibilidad de humedad y nutrimentos que son lixiviados; en consecuencia, hay más brotes suculentos, los cuales son atractivos para los vectores transmisores de enfermedades como los afidos (*Toxoptera citricida* y *Aphis gossypii*) y (*Diaphorina citri*) (Villegas y Mora, 2011).

Floración

El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas significativas entre bloques asociados con los síntomas de VTC y HLB, en ambas partes del huerto. A los 15 y 30 días después de inicio de la floración (DDIF) los árboles asintomáticos fueron superiores en el número de flores por metro cuadrado de dosel (Cuadros 1.1 y 1.2). Esto indica que la sanidad del árbol es factor determinante para la floración normal. Se ha documentado que la incidencia de VTC en árboles de naranjo puede adelantar el desarrollo de la floración (Cuéllar, 2016). En el cv. Marrs sin síntomas visuales, llegan a tener 72 flores por metro cuadrado de dosel en floración plena que ocurre a mediados de febrero y principios de marzo, en el trópico seco de Colima, México (Medina *et al.*, 2007), similar a lo encontrado en este trabajo. La fertilización no tuvo efecto en el desarrollo de las flores en la parte baja del huerto, mientras que en la parte alta se encontraron diferencias significativas a los 15 y 30 DDIF; en general, la FQF más FQS superó a los otros tratamientos (Cuadros 1.1 y 1.2). Schumann *et al.* (2019) señalan que la fertilización en cítricos se debe ajustar a las condiciones específicas del suelo y estatus nutrimental del árbol; esto indica que la fertilización debió ser diferente para cada grado de síntomas de los árboles y áreas del huerto.

La aplicación oportuna de nutrimentos en los periodos de mayor demanda de los árboles, propicia mejor eficiencia en la absorción y translocación a los órganos de reserva, para ser usados en la síntesis de productos orgánicos y estimular la floración en cítricos (Srisvastava, 2012), como ocurrió con la FQF más FQS y FCS en la parte alta del huerto. La floración y producción de frutos en los cvs. Valencia y Tangor Murcott (*C. reticulata* x *C. sinensis*) aumentan con la aplicación combinada de sulfato de amonio, fosfato monoamónico y nitrato de potasio al suelo y follaje; al igual que la fertilización foliar con Zn y Mn (Lovatt, 2000; Alayon *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2014) debido a la respuesta rápida en periodos de sequía (Srisvastava, 2012). Por otra parte, la fertilización orgánica también ha resultado apropiada en naranjos en producción (Salgado *et al.*, 2015). Sin embargo, esta requiere de tiempo para liberar los nutrimentos en la solución del suelo y puedan ser absorbidos por las raíces. En general, la mineralización es lenta y puede no coincidir cuando la demanda es alta (Monsalve *et al.*, 2017). Esto puede explicar la menor respuesta de la FOF más FOS y FCS en la floración, debido a que la liberación de nutrimentos no coincidió con el periodo de mayor demanda de los árboles y que además el aporte fuera insuficiente con respecto a los otros tratamientos. En consecuencia, el árbol dispuso de menos energía para la brotación de yemas previamente diferenciadas (Agustí *et al.*, 2003), ocasionando escasa floración. Además, los patógenos, también usan de los nutrimentos al inducir desbalances nutrimentales por taponamiento de los haces vasculares del floema durante la patogénesis (Lacroix *et al.*, 2017).

Cuadro 1.1. Efecto del grado de síntomas asociados con VTC y HLB y de la fertilización en el desarrollo de flores (número de flores m⁻² de dosel) en árboles de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*) plantados en la parte baja del terreno.

Fuentes de variación	Periodo de floración		
	Inicio de la floración	15 DDIF [†]	30 DDIF
	Número de flores m ⁻² de dosel		
Grado de síntomas			
Asintomático	67 b	97 a	119 a
Ligero	121 a	64 b	28 b
Avanzado	37 c	23 c	0 c
Pr > F ^{††}	0.0057	0.0022	0.0459
Fertilización [¶]			
FQF + FQS	83 a	66 a	35 a
FQF + FOS	65 a	56 a	77 a

FQF + FCS	63 a	65 a	40 a
FOF + FQS	60 a	50 a	40 a
FOF + FOS	85 a	78 a	68 a
FOF + FCS	92 a	52 a	73 a
Pr > F	0.3730	0.3469	0.7219

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). [†]DDIF = Días después de inicio de la floración. ^{††}Pr >F: Nivel de significancia estadística. [†]FQF: Fertilización química foliar, FOF: Fertilización orgánica foliar, FQS: Fertilización química al suelo, FOS: Fertilización orgánica al suelo, FCS: Fertilización combinada al suelo.

Cuadro 1.2. Efecto del grado de síntomas asociados con VTC y HLB y de la fertilización en el desarrollo de la flor (número de flores m⁻² de dosel) durante la floración en árboles de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*) plantados en la parte alta del terreno.

Fuentes de variación	Periodo de floración		
	Inicio de la floración	15 DDIF [†]	30 DDIF
	Número de flores m ⁻² de dosel		
Grado de síntomas			
Asintomático	7 b	43 a	91 a
Ligero	2 b	25 a	96 a
Avanzado	37 a	15 a	28 b
Pr > F ^{††}	0.0001	0.2812	0.0303
Fertilización			
FQF + FQS	15 a	43 a	90 a
FQF + FOS	18 a	37 b	72 ab
FQF + FCS	17 a	39 ab	87 a
FOF + FQS	14 a	18 c	73 ab
FOF + FOS	14 a	16 c	57 b
FOF + FCS	14 a	17 c	50 b
Pr > F	0.7093	<0.001	<0.001

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). [†]DDIF: Días después de inicio de la floración. ^{††}Pr >F: Nivel de significancia estadística.

Amarre de fruto

En esta variable que determina la magnitud de la cosecha final en los cítricos (Guardiola, 2004); fue afectada por el grado de síntomas asociados a VTC y HLB en la parte baja del huerto. Los árboles asintomáticos y con síntomas ligeros superaron

significativamente con 92 y 74 frutos por rama respectivamente a los árboles con síntomas avanzados que tuvieron 53 frutos. Además, hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos en las partes baja y alta del huerto, la FQF más FCS fueron superiores a la FOF y sus combinaciones (Cuadro 1.3). Se ha reportado que en árboles de limón mexicano (*C. aurantifolia*), el HLB disminuye el número de frutos por árboles (Robles *et al.*, 2017), pero con fertilización basada en N, P y K al suelo combinada con N, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn y Cu al follaje en árboles de mandarina (*C. reticulata*) se reducen los síntomas de la enfermedad (Pustika *et al.*, 2008) y se incrementa en número de frutos por rama (El-Aidy *et al.*, 2018). Respecto a VTC, son inexistentes los trabajos que abordan el manejo de la enfermedad con nutrición eficaz del árbol. No obstante, se ha observado aumento en número de frutos en el cv. Valencia con fertilización química al suelo a base de nitrato de amonio, sulfato de potasio y superfosfato; y combinada (química a 50 % más 15 kg de compost) (El-Aidy *et al.*, 2018). La aplicación de fertilizantes orgánicos al suelo resulta positiva en la producción de naranjos (Salgado *et al.*, 2015), incluso, aplicaciones constantes por más de 15 años induce brotes adventicios en las porciones terminales de las raíces de árboles cítricos que ayudan en la absorción de nutrimentos (Trinchera *et al.*, 2015). En el presente trabajo, no se observó esta respuesta, ya que se evaluó un ciclo de producción. Sin embargo, el amarre de fruto fue mayor en la parte baja del huerto, lo cual puede tener relación con mayor disponibilidad de nutrimentos y humedad que son lixiviados.

Cuadro 1.3. Efecto del grado de síntomas asociados con VTC y HLB y de la fertilización en el amarre de fruto (número de frutos por rama) en árboles de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* /*C. volkameriana*) plantados en las partes baja y alta del terreno.

Fuentes de variación	Parte baja	Parte alta
	Número de frutos por rama	
Gado de síntomas		
Asintomático	92 a	13 a
Ligero	74 a	19 a
Avanzado	53 b	9 a
Pr > F	0.0001	0.0981
Fertilización		

FQF + FQS	72 ab	15 ab
FQF + FOS	73 ab	10 b
FQF + FCS	89 a	20 a
FOF + FQS	71 ab	14 ab
FOF + FOS	65 b	9 b
FOF + FCS	65 b	13 ab
Pr > F	0.0014	0.0085

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). Pr >F: Nivel de significancia estadística.

Rendimiento

Se encontraron diferencias estadísticas entre bloques asociados con el grado de síntomas de VTC y HLB, pero no por la fertilización en ambas partes del huerto; los árboles asintomáticos rindieron 6 kg en la parte baja del huerto y 12 kg en la parte alta, superando a los árboles con síntomas ligeros y avanzados (Cuadro 1.4). El cv. Marrs puede producir hasta 63 kg de fruto por árbol en condiciones óptimas (Medina *et al.*, 2007). En general en el presente trabajo el rendimiento fue bajo; por lo que difiere al reportado por Alayon *et al.* (2014), Trinchera *et al.* (2015) y El-Aidy *et al.* (2018) que fue de 64 a 80 kg de fruto por árbol con la aplicación de fertilizantes químicos, orgánicos y combinados al suelo y foliar en condiciones de clima favorable. En la región, normalmente la precipitación es de 1314 mm y la temperatura media anual es de 23°C (Conagua, 2010). Pero durante el desarrollo del experimento la precipitación pluvial fue baja, con señales claras de la falta de humedad en el suelo y árboles con síntomas de agobio hídrico, hojas con diferentes grados de marchitez y enrollamiento durante el día como se presentan en la Figura 1.2 A. Estas condiciones coincidieron con el periodo de desarrollo de fruto que fue de marzo a octubre de 2019. Por lo tanto, es de esperarse, que la disponibilidad de nutrimentos en el suelo y la absorción de los mismos por las raíces del árbol, así como la translocación a los sitios de demanda sea reducida (Agustí *et al.*, 2003; Srisvastava, 2012) y se provoque caída de frutos como se muestra en la Figura 1.3. En árboles con síntomas ligeros y avanzados del complejo VTC y HLB presentaron progresivamente frutos necrosados, completamente secos, endurecidos y adheridos a las ramas (Figura 1.2 C), de manera similar a los descrito por Cuéllar (2016) en árboles afectados por VTC, disminuyendo aún más la producción de fruto. Además,

la infección simultánea de CLas y VTC puede tener efecto de sinergia en el debilitamiento del árbol por la alteración de la translocación de nutrimentos (Fu *et al.*, 2017). En el presente trabajo los árboles con síntomas ligeros y avanzados presentaron declinamiento general (follaje escaso con deficiencias nutrimentales, muerte de ramas anuales, con frutos débilmente desarrollados) (Figuras 1.2 B y D). Estas evidencias muestran que el agobio hídrico y la incidencia y severidad del complejo VTC y HLB son factores que limitaron drásticamente la producción de frutos en los árboles de naranjo 'Marrs' manejados en condiciones de temporal.

Cuadro 1.4. Efecto del grado de síntomas asociados con VTC y HLB y de la fertilización en el rendimiento (kg de fruto árbol⁻¹) en árboles de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* /*C. volkameriana*) plantados en las partes baja y alta del terreno.

Fuentes de variación	Parte baja	Parte alta
	kg de fruto árbol ⁻¹	
Grado de síntomas		
Asintomático	6 a	12 a
Ligero	5 ab	8 ab
Avanzado	4 b	2 b
Pr > F	0.0111	0.0002
Fertilización		
FQF + FQS	5 a	10 a
FQF + FOS	5 a	7 a
FQF + FCS	5 a	7 a
FOF + FQS	5 a	6 a
FOF + FOS	5 a	6 a
FOF + FCS	5 a	7 a
Pr > F	0.7681	0.3075

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). Pr >F: Nivel de significancia estadística.

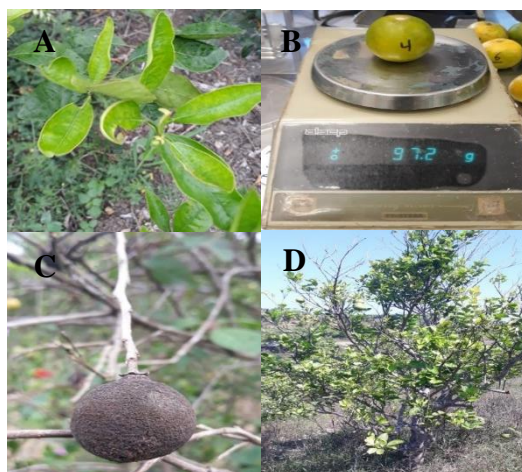


Figura 1.2. Síntomas de agobio hídrico en hojas (A), frutos cosechados pequeños (B), frutos necrosados asociados a VTC (C), declinamiento en naranjo 'Marrs' (D).



Figura 1.3. Caída de frutos en árbol de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*) en condiciones de agobio hídrico y síntomas asociados a VTC y HLB, en el sitio experimental ubicado en Cazones de Herrera, Veracruz, México.

1.6 CONCLUSIONES

La fertilización química y combinada (50 % química más 10 kg de compost) aplicada al suelo y follaje, favorecieron la floración y amarre de fruto sobre todo en el huerto de la parte alta; la falta de precipitación pluvial provocó severo estrés hídrico que limitó el desarrollo de los frutos, por lo que el rendimiento por árbol fue bajo. Aún en estas condiciones se pudo observar que los árboles asintomáticos y con síntomas ligeros a VTC y HLB, tuvieron mejores respuestas en floración, amarre y rendimiento. La incidencia máxima confirmada por PCR para VTC fue 47 % y para HLB 64.7 % en los árboles de naranjo 'Marrs', en Cazones de Herrera, Veracruz, México.

1.7 LITERATURA CITADA

- Achor D., E. Etxeberria, N. Wang, S. Y. Folimonova, K. R. Chung and G. Albrigo (2010) Sequence of anatomical symptom observations in citrus affected with Huanglongbing disease. *Plant Pathology Journal* 9: 56-64. Doi: 10.3923/ppj.2010.56.64
- Agustí M., A. Martínez F., C. Mesejo, M. Juan, V. Almela (2003) Cuajado y Desarrollo de los Frutos Cítricos. GENERALITAT VALENCIANA. Valencia, España. 82 p.
- Alayón L. P., V. A. Rodríguez, A. B. Piccoli; M. D. Chabbal; L. I. Giménez. y G. C. Martínez (2014) Fertilización foliar con macronutrientes a plantas de naranja Valencia late (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) y tangor Murcott (*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 1: 87-96.
- Arce L. A. P., N. E. Leyva L., M. E. Santos C., E. A. Rodríguez N., J. Méndez L., M. A. Manzanilla R. y M. J. Perea F. (2019) Cambios en el metabolismo de carbohidratos asociados a la infección por *Candidatus Liberibacter asiaticus* en limón mexicano (*Citrus aurantifolia*). *Agrociencia* 53:593-604.
- Conagua, comisión nacional del agua (2010) Normales climatológicas por estado: Veracruz, estación Barra de Cazonas (CFE), México. <https://smn.conagua.gob.mx/es/informacion-climatologica-por-estado?estado=ver> (Abril 2020).
- Contreras M. R., E. Ovando B. y A. Villegas M. (2019) Presencia de *Citrus tristeza virus* tipo VT en la región centro norte de Veracruz, México. *In: Avances de Investigación Agrícola, Pecuaria, Forestal, Acuícola, Pesquera, Desarrollo Rural, Transferencia de Tecnología, Biotecnología, Ambiente, Recursos Naturales y Cambio Climático*. Vinay V. J. C., V. A. Esqueda E., O. H. Tosquy V., R. Zetina L., A. Ríos U., M. V. Vázquez H., A. L. Del Ángel P. y C. Perdomo M. (comps.). Medellín, Veracruz, México. INIFAP, CP, UACH, INAPESCA, UV, TecNM. pp. 2296-2312.
- Cuéllar N. A. (2016) Cultivo y explotación de cítricos. Grupo Latino Editores S.A.S. Primera edición. Colombia: 549 p.
- Dellaporta S. L., Wood J. y Hicks J.B. (1983) A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*. 4:19-21.
- El-Aidy A., W. Esa, and S. Alam-Eldein (2018) Effect of organic and bio-fertilization on vegetative growth, yield, and fruit quality of 'Valencia' orange trees. *Productivity and Development* 23:111-134. <https://dx.doi.org/10.21608/jpd.2018.41860>
- Fu S., J. Shao, C. Paul, C. Zhou and J. S. Hartung (2017) Transcriptional analysis of sweet orange trees co-infected with 'Candidatus Liberibacter asiaticus' and mild or severe strains of Citrus tristeza virus. *BMC Genomics*. Doi: 10.1186/s12864-017-4174-8
- González S. E. (1968) El cultivo de los agrios. *Rustica* 3ª. España. 813 p.
- Guardiola B. J. L. (2004) Cuajado del fruto, aspectos hormonales y nutricionales. *Universidad Politécnica de Valencia, España*.

- Hamido D. A., R.C Ebel and K. T Morgan (2019) Interaction of Huanglongbing and foliar applications of copper on water relations of *Citrus sinensis* cv. Valencia. *Plants* 9: 1-17. Doi: 10.3390 / plants8090298
- Jagoueix S. J., J. M. Bové and M. Garnier (1996) PCR detection of two *Candidatus Liberibacter* species associated with greening disease of citrus. *Molecular and Cellular Probes*. 10: 43-50.
- Lacroix C., E. W. Seabloom and E. T. Borer (2017) Environmental Nutrient Supply Directly Alters Plant Traits but Indirectly Determines Virus Growth Rate. *Microbiol* 8: 2116. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02116>
- Lovatt C. J. (2000) Manegament of foliar fertilization. *Terra*, 17: 258-264.
- Medina U. V.M., G. Zapiáin E., M. M. Robles G., O. Pérez Z., M. Orozco S., T. Williams y S. Becerra R. (2007) Fenología, eficiencia productiva y calidad de fruta de cultivares de naranjo en el trópico seco de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 133-143.
- Monsalve C. O. I., J. S. Gutiérrez D. y W. A. Cardona (2017) Factores que intervienen en el proceso de mineralización de nitrógeno cuando son aplicadas enmiendas orgánicas al suelo. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 11: 200-209. Doi: <http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5663>
- Mora, A. G., P. Robles G, J. López A., L. Flores S., G. Acevedo S., S Domínguez M., ... y R. Gonzales G. (2014) Situación Actual y Perspectivas del Manejo del HLB de los Cítricos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 32:108.119.
- Müller G. W., M. L. Penteado N. T., S. Alves C., A. Alves de S. e J. C. Verle R. (2005) Doenças de citros causadas por vírus e viróides. In: CITROS. D. D. M. Junior, J. D. D. Negri, R. M. Pio e J. P. Junior., (eds). Intermídia Produções Gráficas. São Paulo, Brazil: pp. 567-604.
- Pustika A. B., S. Subandiyah, P. Holford, G. A. C. Beattie; T. Iwanami and Y. Masaoka. (2008) Interactions between plant nutrition and symptom expression in mandarin trees infected with the disease Huanglongbing. *Australasian Plant Disease Notes* 3: 112-115.
- Rivas V. P., E. Loeza K., G. Mora A., V. Febres, D. Ochoa M., M. A. Gutiérrez E., ... y N. Arno W. (2008) Estructura poblacional de aislamientos de Citrus tristeza virus y su asociación con la muerte súbita de los Cítricos en Brasil. *Agrociencia* 42: 85-93.
- Robles G. M. M., M. Orozco S., M. A. Manzanilla R., J. J. Velázquez M. y S. H. Carrillo M. (2017) Efecto del HLB sobre el rendimiento de limón mexicano en Colima, México. *Revista mexicana de Ciencias Agrícolas* 8: 1101-1111.
- Rodríguez V. A., S. C. Cabrera B., G. C. Martínez, M. D. Chabbal y S. M. Mazza (2014) Fertilización foliar con zinc y manganeso en huertos de naranjo 'Valencia late'. *Cultivos Tropicales* 35. 100-105.
- Salgado G. S., D. J. Palma L., J. Zavala C., S. Cordoba S., M. Castelán E., L. del C. Lagunés E., ... y J. A. Roncón R. (2015) Programa de fertilización sustentable para plantaciones de cítricos en Tabasco, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 9: 345-356

- Schumann A., L. Waldo, T. Vasisth, A. Wright and K. Morgan (2019) Critical Leaf Nutrient Thresholds to Diagnose Deficiencies in HLB Trees. *Citrus Industry News*. 10: Issue 16.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2018) Anuario estadístico de la producción agrícola Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Ciudad de México. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Enero 2019).
- Srisvastavas A. K. (2012) *Advances in Citrus Nutrition*. Springer first edition. New York London. 475 p. DOI 10.1007/978-94-007-4171-3
- Trinchera A., B. Torrìsi, M. Allegra, S. Rinaldi, E. Rea, F. Intrigliolo and G. Roccuzzo (2015) Effects of Organic Fertilization on Soil Organic Matter and Root Morphology and Density of Orange Trees. *Acta Horticulturae* 1065: 1807-1813. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1065.231>
- Villegas M. A. y J. A. Mora A. (2011) Avances de la fruticultura en México. *Revista Brasileira de Fruticultura Jaboticabal-SP*, Volumen Especial, E: 179-186.
- Xia Y., G. Ouyang, R. A. Sequeira, Y. Takeuchi, I. Baez, and J. Chen (2011) A review of Huanglongbing (Citrus Greening) Management in Citrus using Nutritional Approaches in China. *Plant Health Progress*. Doi: 10.1094/PHP-2010-1003-01-RV.

CAPÍTULO 2. ESTATUS NUTRIMENTAL Y FERTILIZACIÓN INTEGRAL DE ÁRBOLES DE NARANJO ‘MARRS’ CON SÍNTOMAS ASOCIADOS A VTC Y HLB, EN RELACIÓN CON DEFICIENCIAS NUTRIMENTALES EN HOJAS, COMPOSICIÓN MINERAL Y CALIDAD DEL FRUTO

2.1 RESUMEN

La incidencia del Virus Tristeza de los Cítricos (VTC) y Huanglongbing (HLB) cada vez es mayor en regiones citrícolas de Veracruz, a su vez, el agobio hídrico y temperaturas altas acentúan la severidad de las enfermedades. Esto repercute en el desbalance nutrimental del árbol, razón por la cual presentan síntomas visibles en el dosel y declinamiento. Se han recurrido a medidas alternativas con fertilización para mitigar síntomas y mantener productivos a los árboles. El objetivo fue estudiar el estatus nutrimental de árboles de naranjo ‘Marrs’ con síntomas asociados a VTC y HLB, y su relación con deficiencias nutrimentales en hoja, la composición mineral y calidad de los frutos de árboles fertilizados. El estudio inició el 7 de agosto de 2018 y finalizó el 1 de octubre de 2019 en una plantación comercial con árboles de seis años en Cazones de Herrera, Veracruz. Previo a la fertilización, se realizó diagnóstico nutrimental implementando los índices DOP. El diseño experimental fue parcelas divididas en bloques al azar con tres repeticiones. Las variables fueron: estatus nutrimental del árbol, deficiencias nutrimentales en hoja, composición mineral y calidad del fruto. El método DOP detectó que los nutrientes más limitantes con base al ORN fueron: Zn>Mn>Cu>B>P>Mg>Fe>K>N>S, pero los índices para el N, S, Zn y Mn se vuelven más negativos en los árboles con síntomas ligeros y avanzados. La fertilización química foliar promovió el desarrollo de brotes vegetativos sin deficiencias nutrimentales durante la floración y amarre de fruto. La falta de lluvia provocó agobio hídrico, que afectó la respuesta de los árboles a los tratamientos durante el desarrollo del fruto. Por lo tanto, se presentaron síntomas de deficiencias de Zn y Mn, en combinación con moteado clorótico asimétrico en la lámina foliar y declinamiento general en las ramas asociados a VTC y HLB. En consecuencia, se afectó la composición mineral en los frutos con excepción del P, Ca y Cu, y presencia de frutos de tamaño pequeño a mediano, con poco contenido de jugo, alto en azúcares totales y ácido cítrico. La incidencia de VTC y HLB

promueven desbalances nutrimentales, aunado al estrés hídrico, son dos factores que están limitando la producción de naranja 'Marrs'.

Palabras claves: *Citrus sinensis*, deficiencias nutrimentales, composición mineral, síntomas de VTC y HLB.

2.2 ABSTRACT

The incidence of the Citrus Tristeza Virus (CTV) and Huanglongbing (HLB) is increasing in citrus regions of Veracruz, in turn; the water stress and high temperatures accentuate the severity of the diseases. This affects the nutritional imbalance of the tree, which is why they present visible symptoms in the canopy and decline. Alternative fertilized measures have been used to mitigate symptoms and keep trees productive. The objective was to study the nutritional status of 'Marrs' orange trees with symptoms associated to CTV and HLB, and its relationship with nutritional deficiencies in the leaf, mineral composition, and fruit quality of fertilized trees. The study updated on August 7, 2018, and ended on October 1, 2019, in a commercial plantation with six-year-old trees in Cazonos de Herrera, Veracruz. Before fertilization, a nutritional diagnosis was carried out by implementing the DOP indices. The experimental design was plots divided into random blocks with three replications. The variables were tree nutritional status, leaf nutritional deficiencies, mineral composition, and fruit quality. The DOP method detected that the most limiting nutrients based on the ORN were Zn>Mn>Cu>B>P>Mg>Fe>K>N>S, but the indices for N, S, Zn and Mn become more negatives in trees with mild and advanced symptoms. Chemical foliar fertilization promoted the development of vegetative shoots without nutritional deficiencies during flowering and fruit set. The lack of rain caused water stress, which affected the response of trees to treatments during fruit development. Therefore, symptoms of Zn and Mn deficiencies were presented, in combination with asymmetric chlorotic mottling in the leaf lamina and general decline in the branches associated to CTV and HLB. Consequently, the mineral composition of the fruits was affected except for P, Ca and Cu, and the presence of small to medium-sized fruits, with little content of juice, high in total sugars, and citric acid. The incidence of CTV and HLB promotes nutritional imbalances, coupled with water stress, which are two factors that are limiting the production of orange 'Marrs'.

Keywords: *Citrus sinensis*, nutritional deficiencies, mineral composition, symptoms of CTV and HLB.

2.3 INTRODUCCIÓN

En los últimos tres años surge la preocupación en el norte de Veracruz debido al declinamiento y muerte repentina de árboles de naranjo, lo cual está asociado a la incidencia de VTC (Contreras *et al.*, 2019) y HLB. A la vez, la precipitación pluvial baja y temperaturas altas presentes (Weather Spark. 2016) promueven condiciones de agobio hídrico en los árboles, lo que favorece el debilitamiento y la expresión de síntomas de deficiencias nutrimentales y otros. El trabajo reciente de investigación con HLB se ha centrado en manipular las deficiencias de nutrientes con aplicaciones de fertilizantes para mitigar los síntomas de la enfermedad. En México son inexistentes los trabajos realizados para el control del VTC con base a mejoras en la nutrición; sin embargo, se implementa el uso de portainjertos tolerantes a la enfermedad. Ambos patógenos causan daños en los haces vasculares debido a la susceptibilidad por virus cuando el portainjerto es “naranjo agrio” (*C. aurantium*) en combinación con cualquier variedad comercial (Villegas y Mora, 2011). Los síntomas de VTC dependen de variantes o razas del patógeno, las razas débiles dan lugar a hojas pequeñas y clorosis que se pueden confundir con deficiencias nutrimentales; sin embargo, el desarrollo puede continuar y el árbol se recupera parcialmente (Müller *et al.*, 2005). Con razas severas, el crecimiento es casi paralizado y en corto tiempo el dosel del árbol se defolia por completo, los frutos se quedan pequeños y permanecen unidos a las ramas del árbol (Cuéllar, 2016). El daño directo del HLB se debe a depósitos de almidón en el tejido epidérmico, fundamental y del floema generando obstrucciones (Achor *et al.*, 2010), esto limita el transporte de fotoasimilados y nutrimentos a órganos de demanda (Folimonova y Achor, 2010). En hojas de naranjo se observa apariencia corchosa y nervaduras dilatadas; moteado clorótico asimétrico en la lámina foliar, punteado clorótico hasta amarillamiento y abscisión foliar (Bové, 2006; Esquivel *et al.*, 2012); provocando pérdidas en el rendimiento y calidad de los frutos (Salcedo *et al.*, 2010). La infección combinada de CLas y VTC puede ejercer efecto de sinergia en el debilitamiento del árbol; debido a que altera el transporte de nutrimentos (Fu *et al.*, 2017); por ejemplo, la carencia de Zn en hojas de naranjo (Timothy *et al.*, 2009); Ca, Mg, Mn y Fe en árboles de mandarina

(Pustika *et al.*, 2008); K, Ca, Mg, Cu, Fe, Zn y B en limón mexicano (Manzanilla *et al.*, 2019). En el cv. Valencia afectados por HLB el sistema integrado de diagnóstico y recomendación (DRIS por sus siglas en inglés) detectaron a través del ORN lo siguiente: Mg>Mn>Zn>S>B>K>Fe>N>Ca>Cu>P, siendo el Mg el nutrimento más limitante, seguido del Mn y el Zn, el S, B, K y Fe también son deficientes, pero en un rango menor, cercano al óptimo y los índices en exceso fueron el N, Ca, Cu y P (Schumann *et al.*, 2019). Por lo tanto, la epidemiología de los patógenos como CLas (Schumann, 2009) y los virus (Lacroix *et al.*, 2017) influyen en el desbalance nutrimental del huésped, lo cual genera carencias internas que alteran los procesos fisiológicos y aumento en la susceptibilidad. La aplicación de fósforo a los árboles de cítricos reduce los síntomas y mejoran el rendimiento de fruto (Zhao *et al.*, 2013). Las aplicaciones de microelementos al follaje corrige la carencia de Zn y Mn en árboles afectados por HLB, pero el moteado en las hojas persiste (Beozzo, 2016). La aplicación de nutrientes al suelo y follaje, acompañados de prácticas de riego y poda retardan la enfermedad en algunas especies de cítricos (Xia *et al.*, 2011). Hernández *et al.* (2014) demostraron que la fertilización al suelo y al follaje en árboles de lima 'persa' disminuye la incidencia de HLB. Los cítricos, como árboles perennifolios; absorben nutrimentos del suelo durante el año, pero tienen etapas fenológicas con mayor demanda, tales como la floración, desarrollo de hojas, ramas nuevas y desarrollo de frutos. Con base en lo anterior, el objetivo en este trabajo fue estudiar el estatus nutrimental de árboles de naranjo 'Marrs' con síntomas asociados a VTC y HLB, y su relación con deficiencias nutrimentales en hojas, la composición mineral y la calidad de los frutos de árboles fertilizados.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental y material vegetal

El estudio se realizó del 7 de agosto de 2018 al 1 de octubre de 2019 en un huerto comercial de naranja 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*) de seis años, en producción, sin riego y con manejo de poda de ramas, en Cazones de Herrera, Veracruz, México. Debido a la topografía irregular se seleccionaron árboles asintomáticos, con síntomas ligeros y avanzados en las partes baja y alta del terreno.

Diseño de tratamientos y experimental

Se probaron seis tratamientos de fertilización, resultantes de los factores de estudio: 1) fertilización al suelo a tres niveles, química (FQS), orgánica (FOS) y combinada (FCS); y 2) fertilización foliar a dos niveles, química (FQF) y orgánica (FOF). En un diseño experimental de parcelas divididas en bloques al azar, con tres repeticiones, con un árbol de naranjo como unidad experimental. La parcela grande fue la fertilización foliar y la parcela chica fue la fertilización al suelo. La integración de los bloques se realizó con base en los grados de síntomas asociados a VTC y HLB: 1) asintomático, 2) ligero y 3) avanzado.

La FQS contenía 100 N – 22 P₂O₅ – 195 K₂O – 30 MgO y se aplicó con fertilizantes químicos a razón de 600 g de sulfato de amonio + 120 g de DAP + 468.75 g de sulfato de potasio + 225.5 g de sulfato de magnesio y la otra con 542 g de sulfato de amonio + 468.75 g de sulfato de potasio + 225.5 g de sulfato de magnesio por árbol. La orgánica (FOS) fue compost que contenía 0.06 % NO₃, 0.18 % P₂O₅, 1.12 % K₂O, 0.13 % MgO, 0.39 % CaO y 17 % de materia orgánica (MO) que se aplicó a razón de 10 kg por árbol. La combinada (FSC) consistió en aplicar el 50 % de la FQS y el 100 % de la FOS. La fertilización química, orgánica y combinada al suelo se fraccionaron en dos aplicaciones; la primera se hizo posterior a la cosecha de octubre de 2018, en la mitad del área de goteo; la segunda se hizo en julio de 2019, durante el desarrollo intermedio de frutos, en la otra mitad del área de goteo e incorporados a profundidad 30 cm cerca del área de raíces.

Fertilización Química Foliar (FQF) fue una solución que contenía sulfato de zinc (35.5 % de Zn), bórax pentahidratado (20.5 % de B), sulfato de hierro (20 % de Fe), sulfato de manganeso (27 % de Mn) y sulfato de cobre pentahidratado (25 % de Cu), y se aplicó a razón de 1 g L⁻¹. La Fertilización Orgánica Foliar (FOF) fue el biol “Supermagro”, el cual contenía 0.33 % de K, 0.17 % Ca, 0.11 % Mg, 0.21 % Zn, 0.06 % B, 0.02 % Cu, 0.02 % Fe y 0.0037 % Mn, diluido a 33.33 ml L⁻¹ de agua. En total, se realizaron cuatro aplicaciones de fertilización química y orgánica al follaje a dosis de 500 ml árbol⁻¹ cada 15 días, empezando en la fase de brotación vegetativa y floral y, se concluyó en la etapa

de amarre inicial de fruto; para su aplicación, se usó motobomba SOLO® con capacidad de 12 L.

Muestreo y análisis de suelo

Se realizó durante el desarrollo del fruto del ciclo 2017 – 2018. En total se obtuvieron dos muestras compuestas de 10 submuestras por estrato, a 30 cm de profundidad, las cuales fueron previamente mezcladas sobre plástico inerte mediante el método de cuarteos diagonales. Se guardaron en bolsas de plástico etiquetadas y se analizaron en el laboratorio de Fertilab® en Celaya, Guanajuato, México; en donde se determinó: clase textural, densidad aparente en gcm^{-3} , pH, conductividad eléctrica (CE) en dSm^{-1} , carbonatos totales en %, capacidad de intercambio catiónico (CIC) en $\text{cmol}^+\text{kg}^{-1}$, materia orgánica (MO) en %, contenido de NO_3 , P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, B y S en ppm. El diagnóstico de la fertilidad del suelo se realizó según la Norma Oficial Mexicana (NOM-021 SEMARNAT-2000).

Muestreo y análisis foliar

Se realizó después de la cosecha del ciclo 2017-2018, antes de la aplicación de los tratamientos de fertilización. En total se obtuvieron seis muestras compuestas por seis árboles (una por grado de síntomas, tres por estrato), a 160 cm de altura y distribuida en los cuatro puntos cardinales del árbol. El análisis se realizó en el laboratorio de Fertilab® en Celaya, Guanajuato, México; en donde se determinó el contenido de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Mn, Cu y B en mg kg^{-1} .

Interpretación del análisis foliar con los índices DOP

Se hizo mediante el método de Desviación del Optimo Porcentual (DOP), calculando los índices de cada nutrimento con la siguiente ecuación:

$$\text{índices DOP} = \frac{A - a}{a} (100)$$

Donde:

A = Concentración en la muestra (resultado de laboratorio); **a** = norma DOP (media de niveles críticos de suficiencia). Los índices negativos indican deficiencia, los positivos,

exceso y los índices igual a cero indican condición óptima. Con los índices negativos se obtuvieron el Orden de Requerimiento Nutricional (ORN) y se ordenaron del más requerido al menos requerido.

Muestreo del fruto

Se realizó al momento de la cosecha, en octubre de 2019. En total se recolectaron 180 frutos (cinco por árbol, 90 por estrato) para analizar la calidad de fruto, de estos, se eligieron 18 frutos (tres por tratamiento contrastante, nueve por estrato) para analizar la composición mineral del fruto. El análisis de la calidad de fruto se realizó en el laboratorio de Postcosecha, del posgrado en Fruticultura y la composición mineral en el laboratorio de Fertilidad de suelos y química ambiental del posgrado en Edafología en el Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo.

Variables

Estatus nutrimental del árbol, los resultados del análisis foliar fueron comparados con valores de referencia para el cultivo y el análisis del suelo. Con la implementación de los índices DOP se ordenaron los nutrimentos desde los más requeridos a los menos requeridos y fueron relacionados con los grados de síntomas asociados a VTC y HLB, mediante líneas de tendencias ($r > 0.8$) graficadas en el programa de Excel versión 2016.

Síntomas de deficiencias nutrimentales en hoja, se determinaron en tres fases durante el ciclo. Fase inicial: fue después de la cosecha de octubre de 2018 y antes de la aplicación de los fertilizantes. Se observaron y clasificaron árboles asintomáticos, con síntomas ligeros y avanzados, en ellos se identificaron deficiencias nutrimentales y asociadas al complejo de VTC y HLB. Fase intermedia: se realizó durante la floración y el amarre de fruto, después de la primera aplicación de los fertilizantes al suelo y las cuatro aplicaciones al follaje, para observar el efecto de la fertilización en la evolución de los síntomas. Fase final: se realizó en la cosecha de octubre de 2019, después de las dos aplicaciones de fertilizantes al suelo y las cuatro al follaje, para observar la respuesta de los tratamientos en los síntomas con los que finalizaron los árboles en un ciclo de producción. **Composición mineral del fruto**, se escogieron frutos de los árboles que recibieron FQF + FQS, FQF + FCS y FOF + FOS por su contrastante contenido nutrimental. Las muestras se prepararon previamente a partir de la extracción del jugo

de los frutos, la materia fresca se guardó en bolsas de papel y se colocaron en una estufa de aire forzado a 70°C durante 48 h. El material seco se trituroó en un molino de acero inoxidable con tamiz de 1 mm, posteriormente, se determinó el contenido de N, en el digestado con H₂SO₄, titulación con arrastre de vapor y determinado por el método de Kjeldahl. El P, K, Ca y Mg se digitaron con HNO₃+HClO₄ 2:1 y fueron determinados por colorimetría en el complejo amarillo vanadio molibdato para P, por emisión atómica para K y absorción atómica para Ca y Mg en %. El Zn, Mn, Fe y Cu fueron digeridos con HNO₃+HClO₄ 2:1 y determinados por absorción atómica y el B con azometina H. La **calidad del fruto**, se determinó considerando el peso de fruto en g, el diámetro ecuatorial y polar del fruto en cm medidos con un vernier común, al igual que el grosor de la cáscara y el eje central del fruto en mm; el contenido de sólidos solubles totales (SST) se obtuvo en °Brix con refractómetro digital ATAGO®; se contabilizó el número de semillas por fruto; el contenido de jugo se obtuvo de la relación peso total del fruto y peso del jugo en %; del jugo se tomaron alícuotas de 5 ml, se mezclaron con 3 gotas de fenolftaleína y se tituló con hidróxido de sodio (0.3125 N), para cuantificar el porcentaje de acidez (ácido cítrico) se usó la ecuación: $acidez\ titulable\ (AT) = \frac{NaOH\ gastado\ (ml) \times normalidad\ NaOH \times meq\ de\ ac.citríco \times 100}{volumen\ de\ alícuota\ (ml)}$; el índice de maduración se obtuvo de la relación SST/AT.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados en el paquete estadístico SAS versión 9.4. A cada variable se le realizó un ANOVA, comprobación de supuestos de normalidad, homogeneidad de varianzas y comparación de medias con la prueba de Tukey con $\alpha=0.5$.

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estatus nutrimental del árbol

En general, el estatus nutrimental de los árboles y la fertilidad del suelo fueron superiores en el huerto de la parte baja con respecto a la parte alta. El suelo de la parte baja tuvo niveles superiores de materia orgánica (MO), N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn y B (Cuadro 2.1). Esto puede ser la explicación del mayor contenido de nutrimentos en las hojas de los árboles plantados en la parte baja del terreno, a excepción del K, Zn y B, debido a

exceso de Ca, aunado a la relación de bases intercambiables elevada y pH cercano a 8 en el suelo (Cuadros 2.1 y 2.2). En estas condiciones hay efecto antagónico entre cationes como el K y elementos menores como Zn, B y otros (Alcántar y Trejo-Téllez, 2009), en consecuencia, el bajo contenido es reflejado en las hojas de los cítricos (Obreza y Morgan, 2017).

Además, hubo disminución en el contenido del N, Ca, S, Zn y Mn en las hojas de los árboles con síntomas ligeros y avanzados asociados a VTC y HLB (Cuadro 2.2). El contenido en estos árboles fue bajo comparado con la composición mineral óptima en las hojas de naranjo, que son: 26500 mg de N kg⁻¹ de materia seca (m. s.), P 3100, K y Ca 9500, Mg 3500, S 3000, Zn 87.5, Mn 125, Fe 105, Cu 15.5 y B 115 (Barker y Pilbeam 2007; Morgan *et al.*, 2018). Se ha reportado que el contenido de nutrimentos en mg kg⁻¹ de m. s., disminuye como sigue: K a 18830, Ca a 25940, Mg a 470, Cu a 2.85, Fe a 66.8, Zn a 24.2 y B a 135.06 en hojas de limón mexicano 'Colimex' con la incidencia de HLB (Manzanilla *et al.*, 2019).

Los índices de la desviación del óptimo porcentual (DOP) detectaron deficiencias de nutrimentos en las hojas de naranjo, en los tres grados de síntomas asociados a VTC y HLB, en ambas partes del huerto. En los árboles asintomáticos los nutrimentos más limitantes con base al orden de requerimiento nutrimental (ORN) fueron: Zn>Mn>Cu>B>P>Mg>K>S en la parte baja del huerto y Zn>Mn>Cu>P>Mg>B>Fe>N>S en la parte alta. En los árboles con síntomas ligeros y avanzados el ORN fue similar al de los asintomáticos, siendo el Zn, Mn, Cu, P, B y Mg los más requeridos (Cuadro 2.3). En naranjos 'Valencia' aparentemente sanos los índices DOP detectaron por medio del ORN que los nutrimentos más requeridos eran Cu>Mg>Fe>P>K>Ca>B>N>Mn (Ventura *et al.*, 2012); cuando son afectados por la incidencia de HLB, los índices DRIS indican a través del ORN lo siguiente: Mg>Mn>Zn>S>B>K>Fe>N>Ca>Cu>P, siendo el Mg el más limitante, seguido del Mn y el Zn; el S, B, K y Fe también son deficientes, pero en rango menor, cercano al óptimo y los índices en exceso fueron el N, Ca, Cu y P (Schumann *et al.*, 2019). Esto indica que, en los árboles asintomáticos, el contenido de los nutrimentos estaba en un nivel por debajo de lo óptimo, pero en donde aún no se expresan los síntomas de deficiencia en las hojas, condición que se conoce como hambre oculta. Y

que el HLB genera desbalances nutrimentales en los árboles, similar a lo reportado aquí. Se ha documentado que la incidencia de HLB disminuye el contenido de Zn, Mn, P y Mg en hojas de naranjo (Ramírez *et al.*, 2016), así como el contenido de K, Ca, Cu, Fe y B en hojas de limón mexicano (*C. aurantifolia*) (Manzanilla *et al.*, 2019). Para el caso de VTC son inexistentes los trabajos realizados en México en el manejo de la enfermedad y su relación con el estatus nutrimental en los árboles.

Los índices DOP para N, Ca y Zn en la parte baja del huerto y para Ca, S, Zn y Mn en la parte alta; disminuyeron en los árboles con síntomas ligeros y avanzados asociados a VTC y HLB, con respecto a los árboles asintomáticos (Figuras 2.1 y 2.2). Esto indica que el N, S, Zn y Mn se alejaron del óptimo porcentual con índices más negativos cuando los síntomas son avanzados; el Ca que tuvo índice positivo (en exceso), también disminuyó conforme los síntomas son avanzados. Los índices para P, K, Mg, Fe, Cu y B no mostraron tendencia decreciente conforme el grado de síntomas avanzó. En general se observó desbalance nutrimental acentuado en ambas partes del huerto, debido a que no se encontraron índices en el óptimo porcentual. Se tiene documentado que los índices para Mg, Mn, Zn y B disminuyen en naranjo 'Valencia' afectado por HLB (Schumann *et al.* 2019). Esto se puede deber a que se atrofian los haces vasculares provocado por VTC y HLB en el huésped (Arce *et al.*, 2019; Manzanilla *et al.*, 2019), con efecto de desbalance nutrimental del árbol (Fu *et al.*, 2017), debido a que los patógenos usan el N y el P durante la patogénesis (Lacroix *et al.*, 2017); el sistema de raíces se debilita (Hamido *et al.*, 2019), limitando la absorción de S, Fe y, otros nutrientes que son preferencialmente suministrados por intercepción de raíces (Alcántar y Trejo-Téllez, 2009). Esto indica que la topografía del huerto influye en la fertilidad del suelo y, en consecuencia, en el estatus nutrimental de los árboles, el cual disminuye con el avance de los síntomas asociados a VTC y HLB. De aquí la importancia de estudiar el estatus nutrimental inicial de los árboles y de la fertilidad del suelo, los cuales, fueron considerados para generar una recomendación de fertilización adecuada y oportuna durante el ciclo de producción.

Cuadro 2.1. Fertilidad del suelo en el huerto comercial de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*) en la comunidad de Rancho Nuevo, Cazones de Herrera, Veracruz, México.

Estrato	NO ₃	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Mn	Cu	B	MO	Carbonatos	CIC	pH	CE	Textura	Densidad aparente
----- ppm -----												----- % -----	cmol*kg ⁻¹	ds ^m - ¹	gcm ⁻³			
Bajo	14.0	9.5	194	6362	138	1.69	23.2	0.72	1.74	0.56	0.47	3.51	35.6	33.5	7.93	0.73	Franco arcilloso	1.11
Alto	3.43	6.51	152	5256	110	1.69	6.44	0.15	1.01	0.61	0.34	1.95	44.4	27.6	7.97	0.44	Franco	1.12

Cuadro 2.2. Composición mineral en hojas de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*), con tres grados de síntomas asociados a VTC y HLB, en las partes baja y alta del terreno.

Parte baja del huerto	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Mn	Cu	B
Grado de síntomas	----- (mg kg ⁻¹) -----										
Asintomático	43,700	1,500	7,800	51,200	1,800	2800	159	12.2	19.1	3.53	52.5
Ligero	27,100	1,600	7,000	42,300	1,600	2500	121	8.51	15.3	3.50	55.3
Avanzado	26,600	1,800	9,300	39,800	1,800	2800	155	7.09	19.5	11.6	62.3
Parte alta del huerto											
Asintomático	25500	1300	16000	45600	1600	2900	81.9	13.0	18.9	5.03	57.7
Ligero	20100	1200	15100	45500	1000	2700	108	13.2	16.3	5.36	61.5
Avanzado	23400	1300	16700	40500	1200	2500	97.2	8.99	16.7	6.48	76.1

Cuadro 2.3. Índices DOP y ORN en hojas de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*), con tres grados de síntomas asociados a VTC y HLB, en las partes baja y alta del terreno.

Parte baja del huerto	Índices DOP											ORN
Grado de síntomas	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Mn	Cu	B	
Asintomático	65	-52	-18	439	-49	-7	51	-86	-85	-77	-54	Zn>Mn>Cu>B>P>Mg>K>S
Ligero	2	-48	-26	345	-54	-17	15	-90	-88	-77	-52	Zn>Mn>Cu>Mg>B>P>K>S
Avanzado	0	-42	-2	319	-49	-7	48	-92	-84	-25	-46	Zn>Mn>Mg>B>P>Cu>S>K
Parte alta del huerto												
Asintomático	-4	-58	68	380	-54	-3	-22	-85	-85	-68	-50	Zn>Mn>Cu>P>Mg>B>Fe>N>S
Ligero	-24	-61	59	379	-71	-10	3	-85	-87	-65	-47	Mn>Zn>Mg>Cu>P>B>N>S
Avanzado	-12	-58	76	326	-66	-17	-7	-90	-87	-58	-34	Zn>Mn>Mg>P>Cu>B>S>N>Fe

DOP=Desviación del óptimo porcentual, ORN=Orden de requerimiento nutrimental.

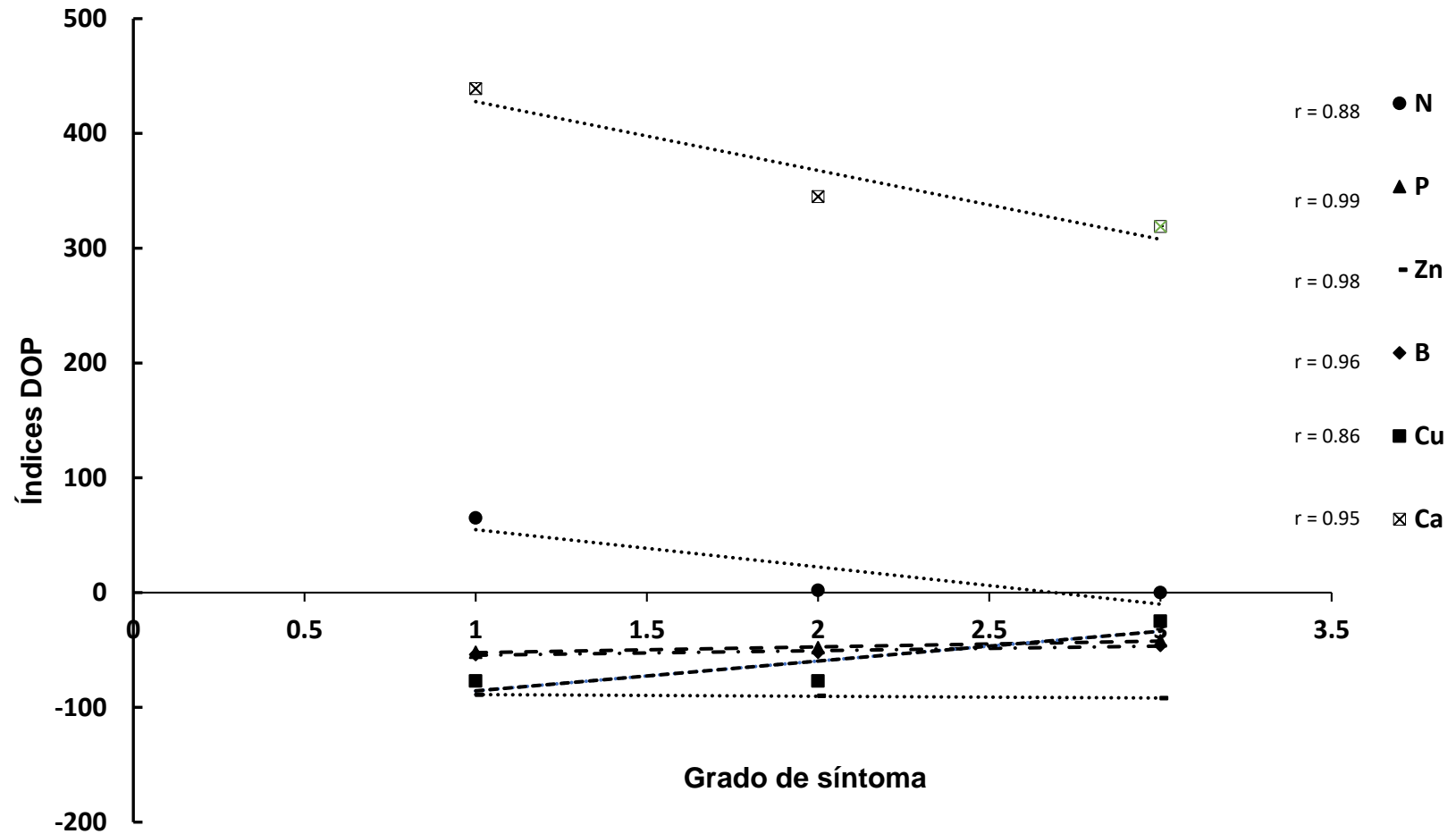


Figura 2.1. Relación entre los índices DOP y el grado de síntoma en árboles de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*) en la parte baja del huerto. 1 = Asintomáticos; 2 = Ligero; 3 = Avanzado.

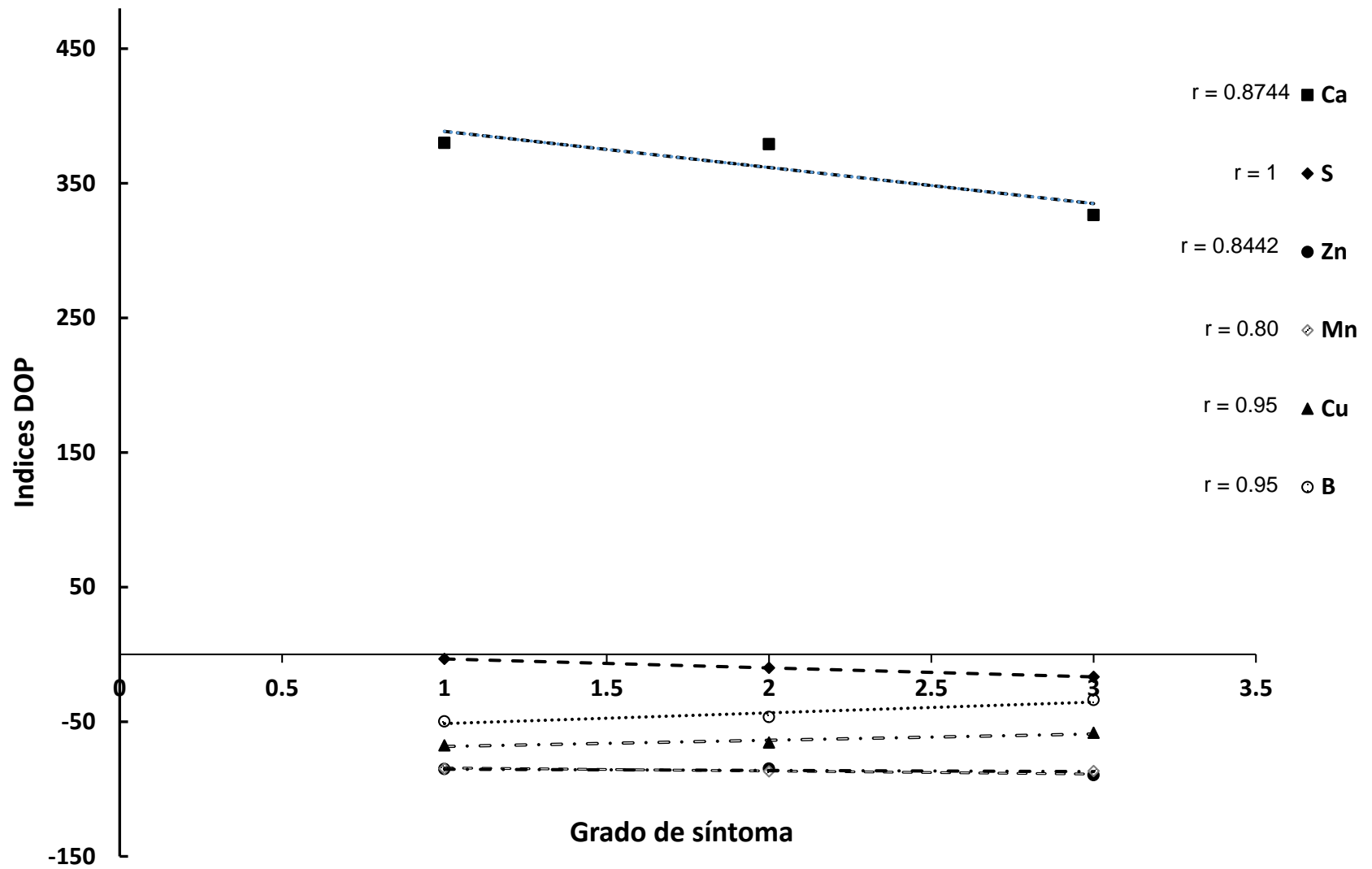


Figura 2.2. Relación entre los índices DOP y el grado de síntoma en árboles de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*), en la parte alta del huerto. **1** = Asintomáticos; **2** = Ligero; **3** = Avanzado.

Síntomas de deficiencias nutrimentales en hoja

Fase inicial. Después de la cosecha de octubre 2018, los árboles presentaron diferentes grados de síntomas en el dosel, en ambas partes del huerto. En general, hubo árboles asintomáticos, con dosel vigoroso sin síntomas visuales ligados a deficiencias nutrimentales ni a los comunes por VTC y HLB. Por otra parte, hubo árboles que presentaron síntomas visuales ligeros de deficiencias de Zn, Mn, Mg y N, además de nervaduras amarillas y clorosis asimétrica en el dosel, pero aún con vigor. En los casos más severos hubo árboles con síntomas avanzados, los cuales presentaron declinamiento general en las ramas (deficiencias de nutrimentos, moteado clorótico acentuado, hojas pequeñas, nervaduras amarillas, defoliación y ramas secas) (Figuras A1 y A2, de ANEXOS). Estos síntomas fueron similares a los reportados por Amorós (2003) y Obreza y Morgan (2017). La deficiencia de Zn en los cítricos, provoca hojas de tamaño pequeño, de forma estrecha y alargada y clorosis en hoja que llegan hasta el margen, la de Mn provoca clorosis intervenal similar a Zn, pero la clorosis no llega hasta el margen de la hoja, la de Mg provoca clorosis en el margen de hojas viejas y entre las nervaduras, formando una “V” invertida y la de N provoca pérdida de color verde intenso en hojas principalmente maduras, amarillamiento en nervaduras, árboles con escaso vigor y poco follaje. Bové (2006) y Esquivel *et al.* (2012) observaron abscisión, hojas con apariencia corchosa, nervaduras cloróticas gruesas y punteados amarillos en la lámina de las hojas de naranjos ‘Valencia’ con HLB. En cítricos afectados por VTC, los síntomas se pueden confundir con deficiencias nutrimentales, se presentan hojas pequeñas y ramas secas (Müller *et al.*, 2005).

Fase intermedia. Al inicio de la brotación vegetativa y floral, las hojas nuevas de los árboles no presentaron síntomas asociados a VTC y HLB, ni deficiencias nutrimentales en ambas partes del huerto (Figura 2.3). Esto indica que la condición inicial de los árboles con síntomas ligeros y avanzados mejoró. En general, se puede deber por la eliminación de ramas enfermas con la poda y a la aplicación de los tratamientos de fertilización, incorporados al suelo con humedad residual del ciclo anterior; lo que propició mayor eficiencia en la absorción y translocación de los nutrimentos a los órganos de reserva, para ser usados en la síntesis de productos orgánicos, para la formación de nuevos órganos (Srisvastava, 2012). Durante la etapa de amarre del fruto, la condición de los

árboles declinó, debido a que durante el desarrollo del experimento la precipitación pluvial fue baja, con señales claras de la falta de humedad en el suelo y árboles con síntomas de agobio hídrico. Estas condiciones reducen el desarrollo de los frutos y el estatus nutrimental (Agustí, 2003; Srisvastava, 2012). Pero en general los árboles con la FQF se mantuvieron asintomáticos; en contraste, los árboles con FOF presentaron síntomas por carencias de Zn y Mn en el follaje (Figura 2.4).



Figura 2.3. Naranja ‘Marrs’ clasificado inicialmente con síntomas ligeros, con brotes vegetativos y florales sin síntomas de deficiencias nutrimentales ni asociadas a VTC y HLB, posterior a la fertilización al suelo.



Figura 2.4. Efecto de la fertilización química (A) y orgánica (B) foliar en los síntomas de las hojas en árboles de naranja ‘Marrs’ (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*), durante el amarre y desarrollo inicial del fruto, en Cazones de Herrera, Veracruz.

Fase final. Como se muestra en las Figuras 2.5 y 2.6, se observaron hojas de árboles en diferentes bloques de síntomas asociados a VTC y HLB, ahora ya confirmados como positivos o negativos a las enfermedades y con diferentes tratamientos de fertilización.

Se encontró que los bloques que iniciaron asintomáticos, terminaron el ciclo con síntomas ligeros de deficiencias de Zn y Mn, además de moteado clorótico asimétrico en la lámina foliar, con nervaduras amarillas y gruesas. Los bloques que inicialmente fueron ligeros y avanzados tuvieron síntomas similares pero acentuados. Los árboles que tuvieron prueba positiva a VTC presentaron hojas pequeñas y clorosis intervenal con recurrencia, los que fueron positivos a HLB tuvieron hojas con nervaduras gruesas y amarillas, y moteado clorótico asimétrico en la lámina foliar. Los árboles que resultaron positivos a VTC y HLB mostraron un complejo de síntomas caracterizados por deficiencias nutrimentales y los frecuentes en los árboles positivos a VTC y HLB descritos arriba. Hubo árboles que no fueron positivos a las dos enfermedades, en general tuvieron hojas verdes y de tamaño normal. No obstante, los árboles que recibieron FQF terminaron el ciclo con tono de verde más intenso en las hojas con respecto a los árboles con FQF, en ambas partes del huerto. Se tiene documentado que los naranjos afectados por HLB presentan moteado clorótico asimétrico en la lámina foliar, punteado clorótico hasta amarillamiento, abscisión foliar y deficiencias de Zn y Mn en las hojas (Esquivel *et al.*, 2012; Beozzo, 2016), similar a los síntomas visuales en árboles positivos a HLB del presente trabajo. Por otra parte, la incidencia de VTC está asociado a síntomas de deficiencias nutrimentales y a la presencia de hojas pequeñas (Müller *et al.*, 2005), tal y como se muestra en los árboles positivos a VTC de este trabajo. Además, la infección simultánea de HLB y VTC puede tener efecto de sinergia en el debilitamiento del árbol por la alteración de la translocación de nutrimentos (Fu *et al.*, 2017). Sin embargo, la aplicación de nutrimentos al suelo y follaje, acompañados de prácticas de riego y poda de rama, retardan los síntomas del HLB y prolongan la etapa productiva en algunas especies de cítricos (Xia *et al.*, 2011). Hay una respuesta similar con la aplicación de nitrato de amonio, potasio, calcio y magnesio más fosfato diamónico y boro al suelo combinado con N, P, K, Ca, microelementos y aminoácidos al follaje en árboles de lima 'persa' con incidencia de HLB (Hernández *et al.*, 2014). La respuesta de la fertilización química al follaje del presente trabajo, fue similar a las técnicas de fertilización reportadas en la literatura. Pero, difiere en que persistió el moteado clorótico asimétrico en la lámina foliar, defoliación y ramas secas, debido a la incidencia de VTC y HLB. Estos resultados también fueron señalados por Beozzo (2016), en donde indica que las aplicaciones de

microelementos al follaje de cítricos corrige la carencia de Zn y Mn en árboles afectados por HLB, pero el moteado en las hojas persiste. Aunado al crecimiento de los árboles sobre suelo calcáreo, con falta de humedad y la aplicación escasa de nutrimentos por la FOF, hacen que los árboles declinen aún en los que inicialmente fueron asintomáticos.

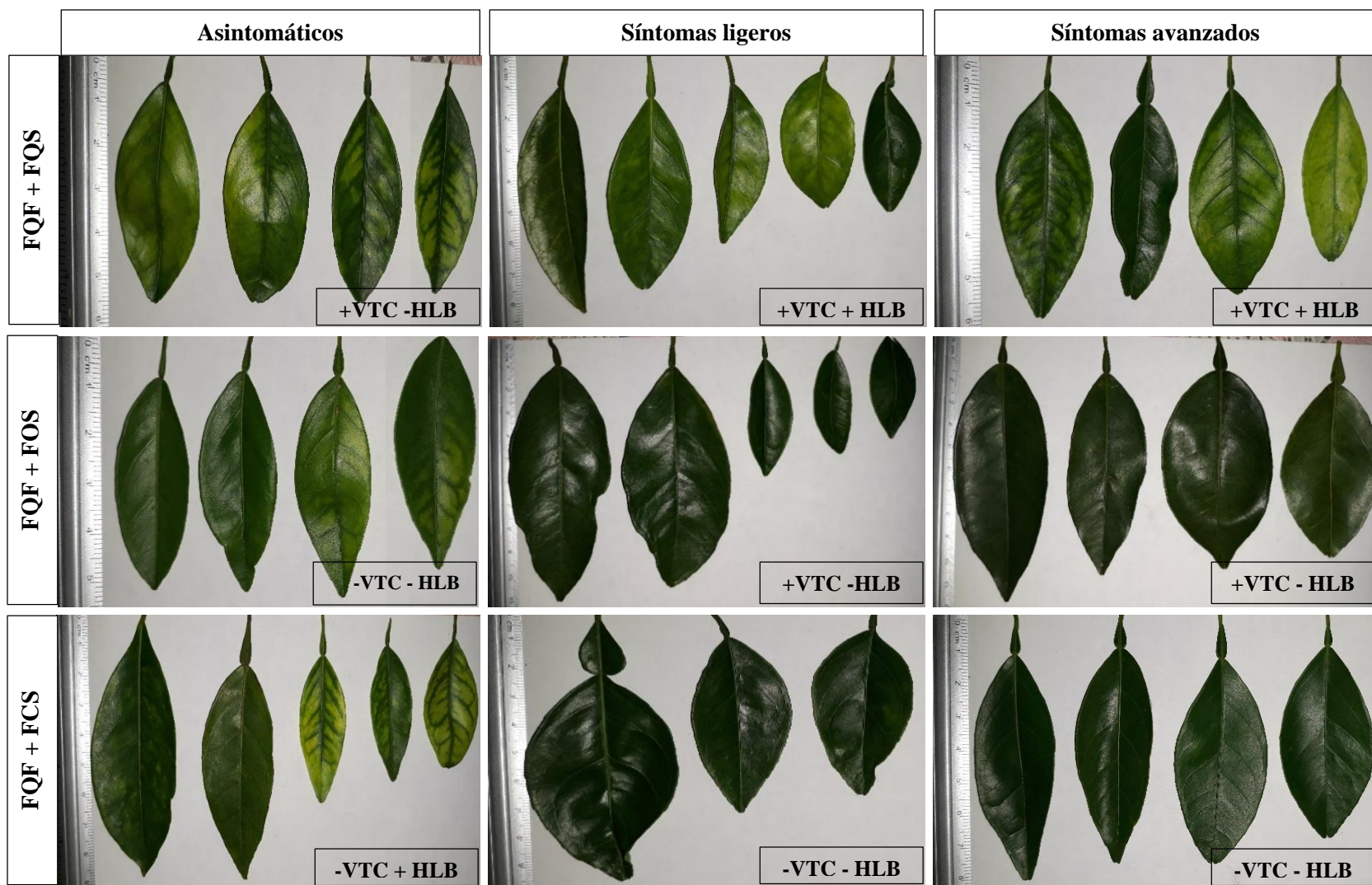


Figura 2.5. Síntomas de deficiencias nutrimentales y, de VTC y HLB en hojas de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*), con fertilización química al follaje más la química, orgánica y combinada al suelo, en la parte baja del huerto.

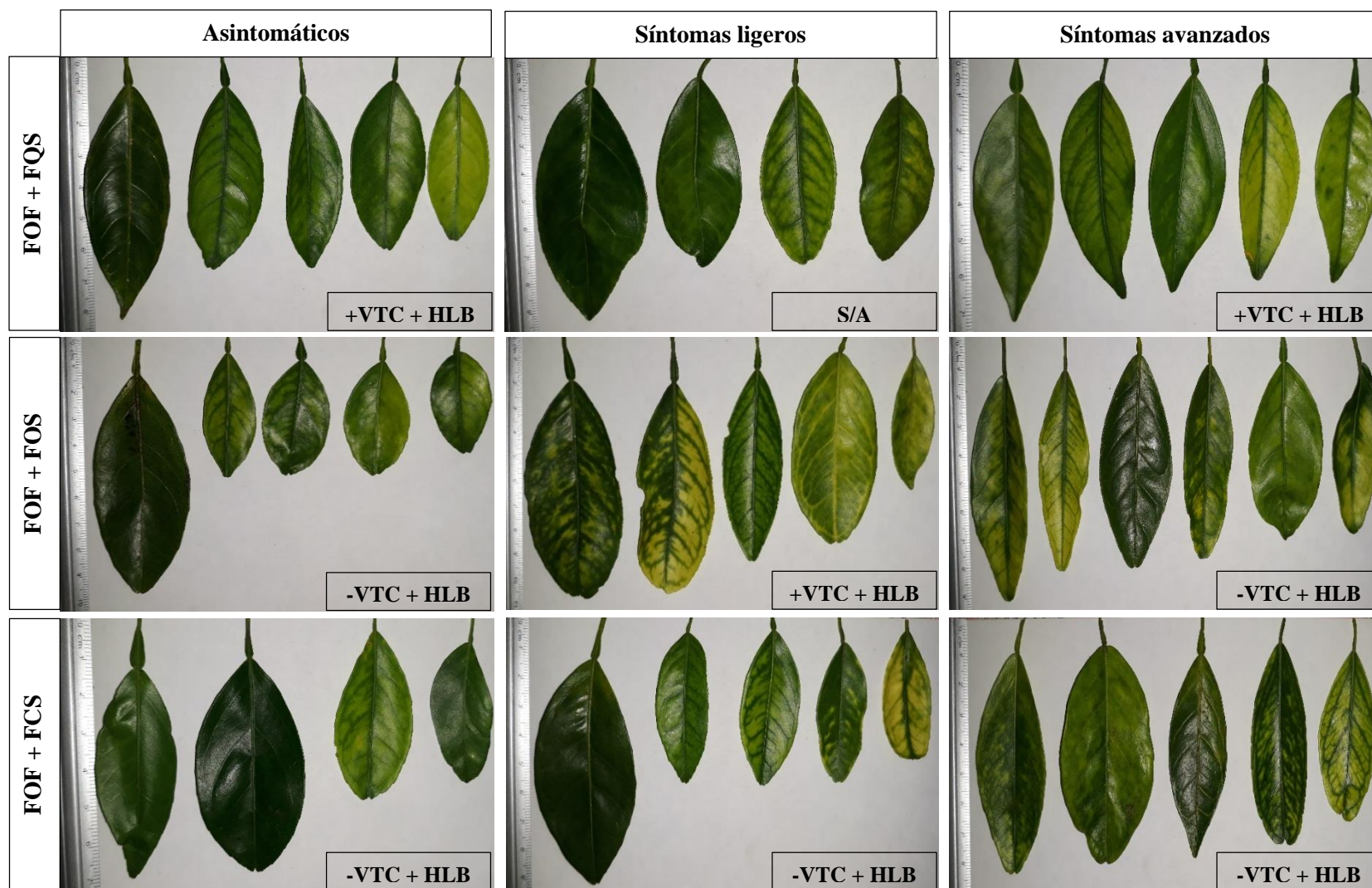


Figura 2.6. Síntomas de deficiencias nutrimentales y, de VTC y HLB en hojas de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*), con fertilización orgánica al follaje más la química, orgánica y combinada al suelo, en la parte baja. S/A= sin analizar.

Composición mineral del fruto

El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos de fertilización en el contenido de N y P en el fruto, en la parte baja del huerto y para el contenido de Cu en la parte alta del terreno. Los frutos de los árboles con FQF + FCS tuvieron 10700 mg de N kg⁻¹ de materia seca (m. s.), que superó a la FQF + FQS y fue similar a la FOF + FOS. Los frutos con el tratamiento de FOF + FOS presentaron 2700 mg de P kg⁻¹ de m. s., que superó a los otros tratamientos, y el tratamiento FQF + FQS presentó 2.67 mg de Cu kg⁻¹ de m. s., que superó a la FOF + FOS que tuvo 1.33 mg kg⁻¹.

El grado de síntoma asociado a VTC y HLB afectó el contenido de Mg en la parte baja del huerto y el contenido de Cu en la parte alta; los frutos de los árboles con síntomas avanzados tuvieron 1300 mg de Mg kg⁻¹ de m. s., y superaron a los frutos de los árboles con síntomas ligeros que tuvieron 700 mg kg⁻¹. Los frutos de los árboles con síntomas ligeros tuvieron 2.67 mg de Cu kg⁻¹ de m. s. y superaron a los frutos provenientes de los árboles con síntomas avanzados que tuvieron 1.33 mg kg⁻¹.

El contenido de K, Ca, Fe, Zn, Mn y B en los frutos no fueron afectados por el grado de síntomas asociados a VTC y HLB, y por los tratamientos de fertilización en ambas partes del huerto (Cuadros 2.4 y 2.5).

Se tiene documentado que los frutos de naranja contienen de 11000 a 12500 mg de N kg⁻¹ de m. s., 1000 a 2500 mg de P, 990 a 13571 mg de K, 250 a 5500 mg de Ca, 800 a 2300 mg de Mg, 31.6 a 74.8 mg de Fe, 1.8 a 5.2 mg de Cu, 4.9 a 12.5 mg de Zn, 5.7 a 13.1 mg de Mn y 29.1 a 36.5 mg de B kg⁻¹ de m. s. (Dipak y Romajit, 2004; Mehmet *et al.*, 2016; Xing *et al.*, 2019; Czech *et al.*, 2019). Los contenidos de nutrientes varían durante el crecimiento y desarrollo de los frutos, por ejemplo, el N, P, Mg, S, Mn y Zn son altos durante el amarre y la primera caída fisiológica del fruto, y van disminuyendo hasta llegar a la maduración. El contenido de K y Fe son altos durante la expansión del fruto y el Ca en la maduración (Xing *et al.*, 2019). La composición mineral también puede diferir por ser especies diferentes, y por otros factores, tales como el manejo de la fertilización, suelo, clima, combinación entre injerto/portainjerto y estado de desarrollo de los árboles (Razi *et al.*, 2011; Cao *et al.*, 2015).

El contenido de **N** fue deficiente en los frutos evaluados, lo que puede tener relación con el nivel pobre de NO_3 en el suelo (3.43 a 14 ppm), aunado a la escasa precipitación pluvial que pudo evitar alcanzar los niveles óptimos reportados en la literatura. También pudo alterar la síntesis de compuestos orgánicos como nucleótidos, enzimas y proteínas (Obreza *et al.*, 2017), además del uso por los virus y bacterias durante la patogénesis (Lacroix *et al.*, 2017). El contenido de **P** fue inconsistente en las dos áreas del huerto; en la parte baja se considera deficiente en el fruto, y en la parte alta en exceso. Esto puede estar relacionado con la fertilidad del suelo en cada condición del terreno y la variación del P durante el desarrollo del fruto (Xing *et al.*, 2019). Se tiene documentado que la incidencia de virus promueve carencias de P (Lacroix *et al.*, 2017) y CLAs induce micro ARNS que también la provocan (Zhao *et al.*, 2013), sin embargo, en los frutos evaluados no se observó ninguna tendencia similar en la disminución del P conforme el avance de los síntomas. El **K** se considera de moderado a deficiente en el fruto, y está asociado con el contenido moderado de K en el suelo (152 a 194 ppm). La falta de humedad en el suelo en la etapa de crecimiento y desarrollo del fruto pudo interferir en la absorción y translocación; además la incidencia de HLB debilita el desarrollo de las raíces (Hamido *et al.*, 2019). En consecuencia, la absorción de K se reduce, por ser un elemento que es suministrado principalmente por difusión (Alcántar y Trejo-Téllez, 2009). El contenido de **Ca** se considera en exceso y supera drásticamente lo reportado en la literatura; fue el elemento más abundante en el fruto, superando a los elementos N y K que en general son los de mayor presencia en frutos de naranja (Molina, 2001). Sin embargo, en un suelo calcáreo con 5256 a 6362 ppm de Ca como en el que están creciendo los árboles, hay alta disponibilidad de Ca, a la vez, tiene efecto antagónico con el N y el K (Alcántar y Trejo-Téllez, 2009). El contenido de **Mg** en los frutos se considera moderadamente deficiente y está asociado con el contenido pobre de Mg (110 a 138 ppm) y excesos de Ca en el suelo, a su vez, la falta de humedad pudo interferir en la eficiencia de los fertilizantes. El contenido de **Cu** fue moderado en el fruto, y también lo fue en el suelo (0.56 a 0.61 ppm), esto indica que la aplicación de los fertilizantes químicos al suelo y al follaje, y la sanidad de los árboles provocan niveles normales de Cu en el fruto, aun cuando los árboles están creciendo en suelo calcáreo y con incidencia de VTC y HLB. El contenido de **Fe**, **Zn**, **Mn** y **B** en los frutos se consideraron de moderados a deficientes.

El suministro alto de Fe en el suelo (6.44 a 23.2 ppm), pobre en Zn (0.15 a 0.72 ppm), de pobre a moderado en Mn (1.01 a 1.74 ppm) y pobre en B (0.34 a 0.47 ppm), indican que no estuvieron disponibles debido a excesos de Ca en el suelo. Además, el estrés hídrico en los árboles provocado por la falta de lluvia, limitó el contenido óptimo del Fe, Zn, Mn y B en los frutos. Estos elementos también se han encontrado en niveles bajos en las hojas de pomelo y limón mexicano 'Colimex' afectados por HLB (Ramírez *et al.*, 2016; Manzanilla *et al.*, 2019), similar a lo ocurrido en los frutos de naranja 'Marrs'.

Cuadro 2.4. Composición mineral del fruto de naranja 'Marrs', cosechados de árboles fertilizados y con síntomas asociados con VTC y HLB en la parte baja del terreno.

Fuentes de variación	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn	B
	mg kg ⁻¹									
Grado de síntomas										
Asintomático	9500 a	1600 a	6400 a	12800 a	900 ab	14.67 a	1.00 a	4.33 a	5.66 a	18.33 a
Ligero	8300 a	1400 a	5700 a	11500 a	700 b	19.67 a	1.00 a	3.66 a	4.66 a	16.00 a
Avanzado	9100 a	2200 a	9400 a	15300 a	1300 a	20.67 a	2.33 a	5.00 a	6.33 a	16.67 a
Pr>F†	0.4812	0.1812	0.1410	0.6377	0.0372	0.9607	0.2170	0.060	0.5071	0.4328
Fertilización‡										
FQF+FQS	7000 b	900 b	7000 a	11100 a	900 a	37.33 a	1.00 a	3.00 a	5.00 a	16.33 a
FQF+FCS	10700 a	1600 ab	6700 a	11800 a	900 a	17.33 a	2.00 a	5.33 a	5.66 a	17.66 a
FOF+FOS	9100 ab	2700 a	7800 a	16700 a	1100 a	0.33 a	1.33 a	4.66 a	6.00 a	17.00 a
Pr>F	0.0396	0.0260	0.7503	0.3775	0.4839	0.3573	0.4444	0.2500	0.7575	0.7432

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05). †Pr >F: Nivel de significancia estadística. ‡FQF: Fertilización química foliar, FOF: Fertilización orgánica foliar, FQS: Fertilización química al suelo, FOS: Fertilización orgánica al suelo, FCS: Fertilización combinada al suelo.

Cuadro 2.5. Composición mineral del fruto de naranja 'Marrs', cosechados de árboles fertilizados y con síntomas asociados con VTC y HLB en la parte alta del terreno.

Fuentes de variación	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn	B
	mg kg ⁻¹									
Grado de síntomas										
Asintomático	8700 a	2700 a	11700 a	12300 a	1100 a	12.33 a	2.00 ab	6.70 a	5.66 a	20.00 a
Ligero	8500 a	2500 a	10700 a	11200 a	1000 a	27.67 a	2.67 a	10.70 a	5.33 a	17.00 a
Avanzado	7500 a	2400 a	8000 a	9700 a	1100 a	13.33 a	1.33 b	6.70 a	6.00 a	16.33 a
Pr>F	0.2899	0.4138	0.1125	0.7228	0.8205	0.7033	0.0400	0.1837	0.7901	0.1748
Fertilización										
FQF+FQS	8000 a	2700 a	9200 a	11500 a	1000 a	18.00 a	2.67 a	9.33 a	6.60 a	16.70 a
FQF+FCS	8000 a	2300 a	10400 a	11200 a	1200 a	10.00 a	2.00 ab	8.33 a	5.66 a	19.70 a
FOF+FOS	8900 a	2600 a	11000 a	10500 a	1000 a	25.33 a	1.33 b	6.33 a	4.66 a	17.00 a
Pr>F	0.3699	0.1624	0.5121	0.9487	0.6421	0.7512	0.0400	0.3989	0.2215	0.2534

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

Calidad de fruto

Peso. El análisis de varianza no detectó diferencias estadísticas significativas entre grados de síntomas asociados a VTC y HLB, y tratamientos de fertilización para peso de fruto (Cuadros 2.6 y 2.7), pero el peso vario de 113 a 160 g, mucho menor a lo reportado para la variedad Marrs; que en condiciones óptimas los frutos son de tamaño mediano a grande, de forma redonda a ligeramente achatados y llegan a pesar 289 g (Medina *et al.*, 2007). La falta de lluvia durante el ciclo provocó severos síntomas de agobio hídrico; en estas condiciones, la disponibilidad de nutrimentos es limitada en los cítricos (Srisvastava, 2012) e impacta en el desarrollo del fruto (Agustí, 2003). Asimismo, la incidencia de HLB disminuye el tamaño de frutos de lima 'persa' (Flores *et al.*, 2015), incluyendo VTC, con la particularidad de que los frutos permanecen unidos a las ramas del árbol con apariencia totalmente necrosados (Cuéllar, 2016).

Diámetro ecuatorial. El análisis de varianza no detectó diferencias estadísticas significativas entre el grado de síntomas asociados a VTC y HLB, y los tratamientos de fertilización para diámetro ecuatorial (Cuadros 2.6 y 2.7); pero en general tuvieron diámetros menores a los reportados para naranja 'Marrs' que es de 7.4 cm y considerado como fruto de tamaño mediano (Cruz, 2003). El CODEX STAN 245 clasifica la calidad de los frutos de naranja para exportación con base a calibres que van de 0 (9.2 a 11 cm) a 13 (5.3 a 6.0 cm) (Codex Alimentarius, 2008). Los frutos del cv. Valencia, tienen diámetro de 7.4 a 8.3 cm y son considerados de tamaño mediano (Ariza *et al.*, 2010). Por lo anterior, los frutos en el presente trabajo son considerados como frutos pequeños a medianos con calibres de 12 a 13.

Diámetro polar. El análisis de varianza no detectó diferencias estadísticas significativas entre los grados de síntomas asociados a VTC y HLB, y tratamientos de fertilización en el diámetro polar del fruto (Cuadros 2.6 y 2.7). Pero, en general, los diámetros son menores a los frutos maduros de naranja que van de 7.4 a 8.3 cm (Ariza *et al.*, 2010). Esto puede deberse a su forma característica achatada del cv. Marrs (Curtí *et al.*, 1998).

Número de semillas: El análisis de varianza no detectó diferencias estadísticas significativas entre los grados de síntomas asociados a VTC y HLB, y los tratamientos de fertilización para número de semillas en los frutos, en ambas partes del huerto. En

general, los frutos tuvieron entre 6 y 9 semillas (Cuadros 2.6 y 2.7), aun cuando se tiene documentado que el cv. Marrs se caracteriza por tener pocas o ninguna semilla (Curtí *et al.*, 1998); sin embargo, esto puede estar relacionado con la calidad de la flor y polinizadores eficientes (Agustí, 2003).

Grosor de la cáscara. El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas significativas entre el grado de síntomas asociados a VTC y HLB para grosor de la cáscara, en la parte alta del huerto. En los árboles con síntomas avanzados, los frutos tuvieron grosor de la cáscara de 3.5 mm, que supero a los árboles asintomáticos y con síntomas ligeros que tuvieron menos de 2.7 mm de grosor. Además, se encontraron diferencias entre los tratamientos de fertilización, los frutos con FOF más FQS presentaron grosor de 3.2 mm que superó a los otros tratamientos (Cuadro 2.7). Los frutos del presente trabajo se consideran de cáscara delgada comparado con lo reportado por Curtí *et al.* (1998) y Medina *et al.* (2007) que indican cáscara lisa y delgada con 4.1 mm de grosor en naranja 'Marrs'. Así mismo, el grosor de la cáscara es reducido en frutos de lima 'persa' por la incidencia de CLas (Flores *et al.*, 2015), pero también se atribuye a deficiencias de P (Futch y Tucker, 2008), ambos guardan relación, ya que CLas en el huésped induce micro ARNS (miARN) que provocan la deficiencia de P hasta 35 % con respecto a árboles con prueba negativa (Zhao *et al.*, 2013).

Diámetro del eje central. El análisis de varianza no detectó diferencias estadísticas significativas entre el grado de síntomas asociados a VTC y HLB para diámetro del eje central, en ambas partes del huerto. Pero, si hubo diferencias entre los tratamientos de fertilización en la parte alta del huerto. Los frutos de árboles con FOF más FCS tuvieron un diámetro de 12.10 mm, que fue superior al de los frutos de árboles que recibieron FOF más FOS que tuvieron 9.10 mm de diámetro (Cuadro 2.7). De acuerdo con Amorós (2003), el diámetro de los frutos de naranja es afectado negativamente debido a carencias de P, lo cual induce cavidades en el centro que llegan a dañar la calidad del fruto. Al respecto, solo en algunos frutos del presente trabajo se observaron estas cavidades.

Contenido de jugo. El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas significativas entre el grado de síntomas asociados a VTC y HLB en el contenido de jugo, en la parte

alta del huerto. Los árboles asintomáticos produjeron frutos con contenido de jugo de 43.55 % que fue superior al de los árboles con síntomas ligeros y avanzados que tuvieron 39.19 y 34.63 % de jugo, respectivamente (Cuadro 2.7). Por otra parte, los tratamientos de fertilización no afectaron el contenido de jugo, en ambas partes del huerto (Cuadros 2.6 y 2.7). En general el contenido de jugo se considera bajo comparado con frutos del cv. 'Marrs' en condiciones óptimas que tienen 53 % (Medina *et al.*, 2007). El agobio hídrico provocado por la precipitación escasa y temperaturas altas, limitaron el desarrollo de los frutos (Agustí, 2003) y está asociado con la baja eficiencia en el uso de los fertilizantes (Srisvastavas, 2012); entre ellos, el K que juega un papel importante en el transporte de agua y regulación osmótica en los órganos de demanda, como consecuencia el contenido de jugo fue bajo. La incidencia de HLB también disminuye el contenido de jugo en frutos de lima 'persa' (Flores *et al.*, 2015) y coincide con lo reportado aquí. En el caso de VTC el daño es severo debido al desarrollo escaso de los frutos con apariencia totalmente seca (González, 1968).

Sólidos solubles totales. El análisis de varianza no detectó diferencias estadísticas significativas entre el grado de síntomas asociados a VTC y HLB, y los tratamientos de fertilización para sólidos solubles totales (SST). Pero el contenido de SST vario de 10.35 a 15.22°Brix (Cuadros 2.6 y 2.7), mayor a lo reportado para la variedad Marrs; que en condiciones del trópico seco de México los frutos llegan a tener 10°Brix (Medina *et al.*, 2007). Las naranjas 'Valencia' contienen de 8.5 a 9 °Brix en Florida, 8.5 a 8.9 °Brix en Texas y 9.97 °Brix en Veracruz, México (Curtí *et al.*, 1998; Ritenour, 2004). Es probable que, al desarrollarse los frutos en condiciones limitantes de agua, tuvieran bajo contenido de jugo y mayor concentración de azúcares totales; a la inversa en frutos de mayor tamaño y contenido de jugo pueden presentar efecto de dilución de los azúcares totales (Curtí *et al.*, 1998).

Acidez titulable. El análisis de varianza no detectó diferencias estadísticas significativas entre el grado de síntomas asociados a VTC y HLB, y los tratamientos de fertilización para acidez titulable (Cuadros 2.6 y 2.7). Pero fueron superiores a los reportados para naranja 'Marrs', que se caracterizan por ser de baja acidez con 0.5 % de ácido cítrico

(Curtí *et al.*, 1998). Otros cítricos dulces contienen 0.4 % en Florida y 1.6 % en el trópico de Veracruz (Curtí *et al.*, 1998; Ritenour, 2004; Medina *et al.*, 2007).

Índice de madurez. El análisis de varianza no detectó diferencias estadísticas significativas entre el grado de síntomas asociados a VTC y HLB, y los tratamientos de fertilización para índice de madurez; en general varió de 8.01 a 30.5 (Cuadros 2.6 y 2.7). Estos valores fueron contrastantes, ya que el índice de madurez depende de la relación entre el contenido de azúcares totales y ácido cítrico. Se tiene documentado que la naranja 'Marrs' alcanza el índice de maduración mínimo exigido precozmente, por esta razón los frutos pueden ser cosechados a partir de octubre (Curtí *et al.*, 1998), con índice de 17.5 (Medina *et al.*, 2007). En otros cítricos dulces varía de 10 a 10.25 en California y Arizona; en el trópico húmedo de Veracruz es de 6.2 (Curtí *et al.*, 1998; Ritenour, 2004). Esto indica que la sanidad de los árboles y fertilización no influyeron en la respuesta al índice de madurez en los frutos.

Cuadro 2.6. Características físicas y químicas de frutos de naranja 'Marrs', cosechados de árboles fertilizados y con síntomas asociados a VTC y HLB, en la parte baja del huerto.

Fuentes de variación	Peso(g)	Diámetro ecuatorial (cm)	Diámetro polar (cm)	Número de semillas	Grosor de cáscara (mm)	Diámetro de eje central (mm)	Contenido de jugo (%)	SST (°Brix)	AT (% de ac. Cítrico)	Índice de madurez (SST/AT)
Grado de síntomas										
Asintomático	117.55 a	6.07 a	5.50 a	7.52 a	2.50 a	11.1 a	46.21 a	13.03 a	0.68 a	21.36 a
Ligero	125.64 a	6.27 a	5.73 a	6.86 a	2.60 a	11.6 a	44.15 a	14.13 a	0.50 a	30.50 a
Avanzado	130.56 a	6.32 a	5.70 a	7.00 a	2.60 a	11.4 a	43.51 a	13.67 a	0.65 a	21.57 a
Fertilización										
FQF + FQS	152.56 a	6.78 a	5.95 a	7.13 a	2.30 a	10.8 a	44.35 a	13.04 a	0.60 a	26.40 a
FQF + FOS	131.30 a	6.25 a	5.73 a	7.73 a	2.60 a	11.4 a	45.04 a	13.34 a	0.59 a	22.64 a
FQF + FCS	112.72 a	6.00 a	5.63 a	7.37 a	2.60 a	11.5 a	48.93 a	12.22 a	0.61 a	20.27 a
FOF + FQS	114.80 a	6.03 a	5.48 a	6.86 a	2.60 a	11.4 a	41.99 a	13.46 a	0.60 a	24.96 a
FOF + FOS	121.66 a	6.12 a	5.55 a	6.26 a	2.60 a	11.4 a	46.66 a	14.47 a	0.67 a	25.06 a
FOF + FCS	114.55 a	6.14 a	5.53 a	7.40 a	2.60 a	11.9 a	40.79 a	15.22 a	0.60 a	27.53 a

Medias con letra distinta para cada factor de estudio indican diferencia significativa (Tukey, $\alpha=0.05$). **FQF** = Fertilización Foliar Química; **FOF** = Fertilización Foliar Orgánica; **FQS** = Fertilización al Suelo Química; **FCS** = Fertilización al Suelo Combinada; **FOS** = Fertilización al Suelo Orgánica. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

Cuadro 2.7. Características físicas y químicas de frutos de naranja 'Marrs', cosechados de árboles fertilizados y con síntomas asociados a VTC y HLB, en la parte alta del huerto.

Fuentes de variación	Peso (g)	Diámetro ecuatorial (cm)	Diámetro polar (cm)	Número de semillas	Grosor de cáscara (mm)	Diámetro de eje central (mm)	Contenido de jugo (%)	SST (°Brix)	AT (% de Ac. Cítrico)	Índice de madurez (SST:AT)
Grado de síntomas										
Asintomático	151.57 a	6.67 a	6.09 a	8.40 a	2.30 b	10.40 a	42.78 a	12.84 a	1.51 a	8.94 a
Ligero	159.68 a	6.84 a	6.21 a	6.73 a	2.70 b	10.50 a	39.19 b	12.48 a	1.23 a	10.58 a
Avanzado	143.08 a	6.64 a	6.11 a	5.90 a	3.50 a	10.50 a	34.63 c	12.42 a	1.28 a	10.51 a
Fertilización										
FQF + FQS	153.70 a	6.77 a	6.19 a	9.13 a	2.80 ab	10.70 ab	38.01 a	12.13 a	1.17 a	11.56 a
FQF + FOS	149.77 a	6.91 a	6.38 a	5.86 a	2.60 ab	9.60 ab	39.33 a	12.04 a	1.30 a	9.82 a
FQF + FCS	176.15 a	7.03 a	6.40 a	7.84 a	2.60 ab	10.00 ab	39.38 a	12.57 a	1.37 a	9.75 a
FOF + FQS	150.84 a	6.65 a	6.08 a	5.86 a	3.20 a	10.70 ab	38.44 a	12.47 a	1.28 a	11.08 a
FOF + FOS	131.40 a	6.34 a	5.83 a	6.73 a	3.10 ab	9.10 b	39.15 a	13.38 a	1.54 a	8.83 a
FOF + FCS	146.80 a	6.60 a	5.94 a	6.60 a	2.50 b	12.10 a	38.88 a	12.39 a	1.38 a	9.03 a

Medias con letra distinta para cada factor de estudio indican diferencia significativa (Tukey, $\alpha=0.05$). **FQF** = Fertilización Foliar Química; **FOF** = Fertilización Foliar Orgánica; **FQS** = Fertilización al Suelo Química; **FCS** = Fertilización al Suelo Combinada; **FOS** = Fertilización al Suelo Orgánica. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

2.6 CONCLUSIONES

Los árboles de naranja presentaron severo desbalance nutrimental, aún los asintomáticos, los nutrimentos más requeridos con base al ORN fueron: Zn>Mn>Cu>B>P>Mg>K>S en el huerto de la parte baja y Zn>Mn>Cu>P>Mg>B>Fe>N>S en la parte alta. Los índices DOP para N y Zn, en la parte baja del huerto y para S, Zn y Mn, en la parte alta, se hicieron más negativos en los árboles con síntomas ligeros y avanzados asociados a VTC y HLB. La fertilización química foliar promovió el desarrollo de brotes vegetativos sin deficiencias nutrimentales durante la floración y amarre de fruto. Pero la falta de lluvia y presencia de temperaturas altas, afectaron la acción de los tratamientos de fertilización, por lo tanto, se presentaron síntomas por carencia de Zn y Mn en hojas nuevas, que se combinan con los síntomas de VTC y HLB. Además, afectó la composición mineral en frutos con excepción del P, Ca y Cu, y presencia de frutos de tamaño pequeño a medio, con poco contenido de jugo, alto contenido de azúcares totales y ácido cítrico.

2.7 LITERATURA CITADA

- Achor, D., E. Etxeberria, N. Wang, S. Y. Folimonova., K. R. Chung, and G. Albrigo, 2010. Sequence of anatomical symptom observations in citrus affected with Huanglongbing disease. *Plant Pathol. J.* 9: 56-64.
- Agustí, M. 2003. "Citricultura". Mundi-Prensa; 2ª Edición. España. Estudio Nutricional en Cítricos de Morelos. 30 p.
- Alcántar, G.G. y L. Trejo T. 2009. Nutrición de cultivos. Mundi-Prensa, primera edición. Mexico. 452 p.
- Amorós, C. M. 2003. Producción de agrios. Mundi-prensa. 3º Edición, Madrid España. 352 p.
- Arce, L. A. P., N. E. Leyva L., M. A. Santos C., E. A. Rodríguez N., J. Méndez L., M. A. Manzanilla R., M. J. Perea F. 2019. Cambios en el metabolismo de carbohidratos asociados a la infección por *Candidatus Liberibacter asiaticus* en limón mexicano (*Citrus aurantifolia*). *Agrociencia* 53: 593-604.
- Ariza, F. R. T., I. Alía, Beltrán M., N. Ambriz C., R. Lugo, A. A. Barrios, A. Aristeo y B. Moreno F. 2010. Calidad de los frutos de naranja 'Valencia' en Morelos, México. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*.11(2):148-153.
- Barker, V. A. and Pilbeam J. D. 2007. Handbook of plant nutrition. Taylor and Francis Group, New York. 662 p.
- Beozzo, R. B. 2016. Nutrición y HLB. Newsletter afinoa, La ciencia al servicio del citrus. 11:1-6.

- Bové, JM. 2006. Huanglongbing: Adestructive, Newly emerging, century old disease of citrus. *Journal of plant pathology* 88(1):7-37.
- Cao, J.; Cheng, C.; Yang, J. and Wang, Q. 2015. Pathogen infection drives patterns of nutrient resorption in citrus plants. *Scientific reports*. 5:14675; doi: 10.1038/srep14675:1-11.
- Codex Alimentarius. 2008. CODEX STAN 245. Norma del Codex para Naranja. En Línea: <http://www.codexalimentarius.net/search/advancedsearch.do>. (octubre de 2019).
- Conagua, comisión nacional del agua (2010) Normales climatológicas por estado: Veracruz, estación Barra de Cazonas (CFE), México. <https://smn.conagua.gob.mx/es/informacion-climatologica-por-estado?estado=ver> (Abril 2020).
- Contreras, M. R.; E. Ovando B.; A. Villegas M. 2019. Presencia de Citrus tristeza virus tipo VT en la región centro norte de Veracruz, México. 2296-2312. Vinay, V. J. C., V. A. Esqueda E., O. H. Tosquy V., R. Zetina L., A. Ríos U., M. V. Vázquez H., A. L. Del Ángel P y C. Perdomo M. (comps.). 2019. Avances de investigación agrícola, pecuaria, forestal, acuícola, pesquera, desarrollo rural, transferencia de tecnología, Biotecnología, ambiente, recursos naturales y cambio climático. INIFAP, CP, UACH, INAPESCA, UV, TecNM. Medellín, Ver., México. Año 3, Núm. 1, 2488.
- Cruz, F. M. 2003 Naranjas tempranas, una opción para la diversificación citrícola de la Huasteca Potosina. Campo experimental Huichihuayán. CIRNE. INIFAP. San Luis Potosí, México. 16 p.
- Cuéllar, N. A. 2016. Cultivo y explotación de cítricos. Grupo Latino Editores S.A.S. Primera edición. Colombia: 549 p.
- Curtí, D. S. A., U. Díaz Z., X. Loredo S., J. A. Sandoval R., L. Pastrana A., M. Rodríguez C. 1998. Manual de Producción de Naranja para Veracruz y Tabasco. Libro Técnico No. 2. CIRGOC. INIFAP.SAGAR. 175 p.
- Czech, A., E. Zarycka, D. Yanovych, Z. Zasadna, I. Grzegorzcyk, S. Klys. 2019. Mineral content of the pulp and peel of various citrus fruit cultivars. *Biological Trace Element Research*. 193 (2): 555-563.
- Dipak, K. P. y Ranajit K. S. 2004. Nutrients, Vitamins and Minerals Content in Common Citrus Fruits in the Northern Region of Bangladesh. In *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 7 (2): 238-242.
- Esquivel, C. F., G. Valdovinos P., G. Mora A., R. Gómez J., J. J. Velázquez M., A. Manzanilla R., J. L. Flores S., J. I. López A. 2012. Análisis histológico foliar de cítricos agrios y naranja dulce con síntomas ocasionados por *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Agrociencia* 46: 769-782.
- Flores, S. J. L., G. Mora A., E. Loeza K., J. I. López A., S. Domínguez M., G. Acevedo S., P. Robles G. 2015. Perdidas en producción inducida por *Candidatus Liberibacter asiaticus* en Limón Persa, en Yucatán México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 33: 195-210.

- Folimonova, S. Y., and S. D. Achor. 2010. Early events of citrus greening (Huanglongbing) disease development at the ultrastructural level. *Phytopathology* 100: 09-49.
- Fu S., J. Shao, C. Paul, C. Zhou and J. S. Hartung. 2017. Transcriptional analysis of sweet orange trees co-infected with 'Candidatus Liberibacter asiaticus' and mild or severe strains of Citrus tristeza virus. *BMC Genomics*. Doi: 10.1186/s12864-017-4174-8
- Futch, S. and D.P.H. Tucker. 2008. A guide to Citrus Nutritional Deficiency and Toxicity Identification. HS-797. University of Florida IFAS Extension. 6.
- Hamido, D. A.; Ebel R.C. and Morgan K. T. 2019. Interaction of Huanglongbing and foliar applications of copper on water relations of Citrus sinensis cv. Valencia. *Plants (Basel)*. 8 (9): 1-17.
- Hernández, F. L. M., M. A. Urrutia L., R. Gómez J., J. I. López A., J. J. Velázquez M. y M. Orozco S. 2014. El Huanglongbing y su vector *Diaphorina citri* en Limón Persa en Nayarit: Recomendaciones para su Manejo. Santiago Ixcuintla, Nayarit, México. Libro técnico Num. 3. 82 p.
- Lacroix, C., Eric W. Seabloom and Elizabeth T. Borer. 2017. Environmental Nutrient Supply Directly Alters Plant Traits but Indirectly Determines Virus Growth Rate. *Front. Microbiol.* 8:2116. 1 – 16.
- Manzanilla, R. M. A., A. Villegas M., J. J. Velázquez M., H. A Zavaleta M., M. Sandoval V. y A. Muñoz O. 2019. Cambios fisiológicos en árboles de limón mexicano en producción infectados con HLB. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7(10): 1603-1614.
- Medina, U. V., Zapiaín E., G., Robles G., M., Pérez Z., O., Orozco S., M., Williams T., B. Rodríguez S. 2007. Fenología, eficiencia productiva y calidad de fruta de cultivares de naranjo en el trópico seco de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30(2): 133-143.
- Mehmet, M. O., Fahad A. J., and Mehmet H. 2016. Mineral content of edible tissues and peel of some fruits consumed as traditional provided from three different countries. In *Indian Journal of Traditional Know ledge*. 15 (2): 203-207.
- Molina, E. 2001. Nutrición y Fertilización de la Naranja. En *Informaciones Agronómicas* n° 40: 5 - 11.
- Morgan, K. T., D. M. Kadyampakeni, M. Zekri, A. W. Schumann, T. Vashisth and A. Obreza. 2018. Nutrition Mangement for citrus trees. University of Florida IFAS. 8 p.
- Müller G. W., M. L. Penteado N. T., S. Alves C., A. Alves de S. e J. C. Verle R. (2005) Doenças de citros causadas por vírus e viróides. In: CITROS. D. D. M. Junior, J. D. D. Negri, R. M. Pio e J. P. Junior., (eds). Intermídia Produções Gráficas. São Paulo, Brazil: pp. 567-604.
- Obreza, T. A. and K. T. Morgan. 2017. Nutrition of Florida Citrus Trees. IFAS. Second edition. Department of Soil and Water Sciences, UF/IFAS Extension. 100 p.

- Pustika, A. B., S. Subandiyah, P. Holford, G. A. C. Beattie, T. Iwanami and Y. Masaoka. 2008. Interactions between plant nutrition and symptom expression in mandarin trees infected with the disease Huanglongbing. *Australasian Plant Disease Notes*. 3. 112–115.
- Ramirez, D., Chaparro J., Ritenour M.A., Wright A., Boman B., Gruber B., Marino S. 2016. Mitigation of Huanglongbing Effects on Grapefruit Trees Using Enhanced Nutritional Programs. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 129:51-55.
- Razi, M.; Khan, I. A. and Jaskani, M. J. 2011. Citrus plant nutritional profile in relation to Huanglongbing prevalence in Pakistan. *Pak. J. Agric. Sci.* 48(4):299-304.
- Ritenour, M. A. 2004. Orange. In: *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Crops*. Gross, K.C., C. Y. Wang, M. A. Salveit. Agriculture Handbook 66. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Research Service.
- Salcedo, B., D., R. A. Hinojosa, G. Mora A., I. Covarrubias G., F.J.R. De Paolis, J. S. Mora F., C. L. Cíntora G. 2010. Evaluación del Impacto Económico de la Enfermedad de los Cítricos Huanglongbing (HLB) en la Cadena Citrícola Mexicana. Kavers S.A. de C.V. México, D.F. 16 p.
- Schumann, A. 2009. Potential use of DRIS for leaf nutrient diagnosis in Florida citrus. *Citrus industry*. 90 (5): 1 -10.
- Schumann, A., L. Waldo, T. Vasisth, A. Wright y K. Morgan. 2019. Critical leaf nutrient thresholds to diagnose deficiencies in HLB trees. *Citrus Industry News*. 10, Issue.
- Srisvastava, A. K. 2012. *Advances in Citrus Nutrition*. Springer. First edition. New York London. 475 p.
- Sukhchain, S., P. P. S. Gill, P. S. Aulakh and S. Singh. 2015. Changes of minerals in fruit peel and pulp of grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) cv. Star Ruby during fruit development. *Res. On Crops* 16 (4): 669-674.
- Timothy, M. S. y Arnold W. Schumann. 2009. Citrus greening-associated nutrient deficiency. *Citrus industry* 90 (5). 14-16.
- Ventura, U. F., Salgado G. S., Castelan E. M., Palma L. D L., Rivera C. M., Sanches G. P. 2012. Métodos de interpretación del análisis nutrimental en naranja valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Terra Latinoamérica*. 2 (39). 139-145.
- Villegas, M. A. y J. A. Mora A. 2011. Avances de la fruticultura en México. *Revista Brasileira de Fruticultura* Jaboticabal-SP, Volumen Especial, E: 179-186.
- Weather Spark. 2016. El clima promedio en Cazonas de Herrera. <https://es.weatherspark.com/y/7808/Clima-promedio-en-Cazonas-de-Herrera-M%C3%A9xico-durante-todo-el-a%C3%B1o>. (septiembre 2019).
- Xia, Y., G. Ouyang, R. A. Sequeira, Y. Takeuchi, I. Baez, and J. Chen. 2011. A review of Huanglongbing (citrus greening) management in citrus using nutritional approaches. *Plant Health Progress*. <https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/review/2011/hlb/>. doi: 10.1094/PHP-2010-1003-01-RV.

- Xing, Z. F., F. Xie, L. Cao, Li-L. L., Chang. P. C., Liang.Z. P. 2019. In Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal. Changes in mineral nutrition during fruit growth and development of 'Seike' and 'Newhall' navel orange as a guide for fertilization. 41 (5): 1-11.
- Zhao, H.; Ruobai S.; Ute A.; Chellappan P.; Airong W.; Michael D. C.; Thomas G.; Zonghua W.; Timothy J. C.; Mikeal R.; Raymond K. Y.; Svetlana F., Georgios V.; Robert R.; Kim D. B. and Hailing J. 2013. Small RNA Profiling Reveals Phosphorus Deficiency as a Contributing Factor in Symptom Expression for Citrus Huanglongbing Disease. *Molecular Plant*. 6 (2): 301-310.

CONCLUSIONES GENERALES

Los árboles asintomáticos, con síntomas ligeros y avanzados presentaron desbalance nutrimental drástico debido a que están creciendo sobre suelo calcáreo con fertilidad baja. Los índices DOP detectaron hambre oculta en los árboles asintomáticos e índices más negativos para N, S y Zn en los árboles con síntomas ligeros y avanzados asociados a VTC y HLB. En general, el orden de requerimiento nutrimental (ORN) fue Zn>Mn>Cu>Mg>P>B>K>N>S. La fertilización química foliar promovió brotes vegetativos y florales vigorosos, sin síntomas de deficiencias nutrimentales o asociados al complejo de VTC y HLB. La fertilización química y combinada al suelo y follaje incrementaron la floración, el amarre de fruto y favoreció en el contenido de N y Cu en el fruto. Se presentaron síntomas de deficiencias de Zn y Mn, en combinación con moteado clorótico asimétrico en la lámina foliar, nervaduras gruesas y amarillas, defoliación con peciolo adheridos a las ramas y la aparición progresiva de frutos necrosados adheridos a ramas secas debido a la incidencia y severidad de VTC y HLB en árboles que están creciendo sobre suelo calcáreo, poco fértil, con falta de humedad y fertilización orgánica poco eficiente. En consecuencia, se redujo el rendimiento, los frutos fueron de tamaño pequeño a mediano, con bajo contenido de jugo, alto en azúcares totales, en ácido cítrico y composición mineral deficiente, a excepción del P, Ca y Cu.

RECOMENDACIONES

Por las condiciones edáficas en las que se desarrollan los árboles, se deben implementar enmiendas que mejoren las propiedades físicas y químicas del suelo. Para ello se recomienda continuar con las aplicaciones de materia orgánica y la incorporación de sustancias acidulantes como el azufre elemental. De esta manera se irá desplazando gradualmente los excesos de Ca hasta llegar a un pH idóneo para mayor disponibilidad de otros nutrimentos en el suelo. Posteriormente, la aplicación de los fertilizantes se debe realizar en condiciones de buen régimen pluvial, para ver el efecto de la fertilización durante el desarrollo del fruto y el rendimiento. Pero es deseable tecnificar las prácticas de fertilización mediante fertirriego para mayor eficacia en la nutrición del árbol. Y así estudiar el efecto de la fertilización en el estatus nutrimental de árboles de naranjos previamente determinados con prueba positiva a VTC, otros para HLB y para el complejo VTC y HLB. Otras prácticas importantes a considerar, es la poda de ramas enfermas usando herramientas desinfectadas, el control de vectores, uso de portainjertos tolerantes y la adquisición de plantas provenientes de viveros certificados.

ANEXOS

Cuadro A1. Valores de probabilidad del ANOVA de los factores de estudios ($Pr>F$) en la parte baja del huerto.

FV	Floración	Amarre de fruto	Rendimiento	Calidad de fruto									
				P	De	Dp	NS	Dc	Dej	Cj	Sst	At	Im
BLOQ	0.005	0.01	0.01	0.54	0.48	0.55	0.42	0.72	0.36	0.66	0.58	0.26	0.36
PG	0.59	0.003	0.55	0.14	0.17	0.19	0.19	0.52	0.25	0.26	0.09	0.79	0.35
PG*BLOQ	0.94	0.13	0.72	0.07	0.06	0.18	0.64	0.30	0.77	0.11	0.57	0.14	0.12
Pch	0.95	0.11	0.78	0.26	0.30	0.84	0.68	0.72	0.21	0.68	0.79	0.95	0.83
PG*Pch	0.37	0.05	0.76	0.26	0.14	0.68	0.33	0.66	0.66	0.31	0.44	0.91	0.47

Cuadro A2. Valores de probabilidad del ANOVA de los factores de estudios ($Pr>F$) en la parte alta del huerto.

FV	Floración	Amarre de fruto	Rendimiento	Calidad de fruto									
				P	De	Dp	NS	Dc	Dej	Cj	Sst	At	Im
BLOQ	0.03	0.02	0.04	0.15	0.51	0.51	0.61	0.01	0.94	<0.001	0.78	0.27	0.18
PG	0.007	0.64	0.15	0.18	0.10	0.59	0.21	0.05	0.23	0.88	0.20	0.15	0.29
PG*BLOQ	0.09	0.81	0.32	0.88	0.68	0.80	0.05	0.47	0.15	0.99	0.24	0.25	0.56
Pch	0.02	0.25	0.35	0.39	0.75	0.95	0.54	0.02	0.01	0.30	0.87	0.18	0.06
PG*Pch	0.13	0.57	0.30	0.66	0.66	0.55	0.23	0.10	0.06	0.78	0.31	0.50	0.95

FV=Fuentes de variación; **P**=Peso; **De**=Diámetro ecuatorial; **Dp**=Diámetro polar; **NS**=Número de semillas; **Dc**=Diámetro de la cáscara; **Dej**= Diámetro de eje central; **Cj**=Contenido de jugo; **Sst**= Solidos solubles totales; **At**= Acidez titulable; **Im**= Índice de madurez.

Cuadro A3. Incidencia de VTC y HLB en árboles de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*).

Parte baja del huerto. Incidencia: VTC: 47 %. HLB: 64.7 %						
Tratamientos	Síntomas	Condición inicial	Condición final	VTC	HLB	
FQF + FQS	Asintomático	1	1	+	-	
	Ligero	2	1	+	+	
	Avanzado	3	1	+	+	
FQF + FCS	Asintomático	1	2	-	+	
	Ligero	2	2	-	-	
	Avanzado	3	1	-	-	
FQF + FOS	Asintomático	1	1	-	-	
	Ligero	2	2	+	-	
	Avanzado	3	2	+	-	
FOF + FQS	Asintomático	1	1	+	+	
	Ligero	2	2	S/A	S/A	
	Avanzado	3	2	+	+	
FOF + FCS	Asintomático	1	2	-	+	
	Ligero	2	2	-	+	
	Avanzado	3	2	-	+	
FOF + FOS	Asintomático	1	3	-	+	
	Ligero	2	3	+	+	
	Avanzado	3	3	-	+	
Parte alta del huerto. Incidencia: VTC 17.64 %. HLB: 29.41 %						
FQF + FQS	Asintomático	1	1	S/A	S/A	
	Ligero	2	1	-	+	
	Avanzado	3	1	+	+	
FQF + FCS	Asintomático	1	1	-	-	
	Ligero	2	2	-	-	
	Avanzado	3	1	-	+	
FQF + FOS	Asintomático	1	2	-	-	
	Ligero	2	1	-	-	
	Avanzado	3	1	-	-	
FOF + FQS	Asintomático	1	1	-	-	
	Ligero	2	2	-	-	
	Avanzado	3	1	-	-	
FOF + FCS	Asintomático	1	1	-	+	
	Ligero	2	2	-	-	
	Avanzado	3	2	+	+	
FOF + FOS	Asintomático	1	1	-	-	
	Ligero	2	2	-	-	
	Avanzado	3	3	+	-	

S/A = Sin Analizar. **+** = positivo; **-** = negativo.

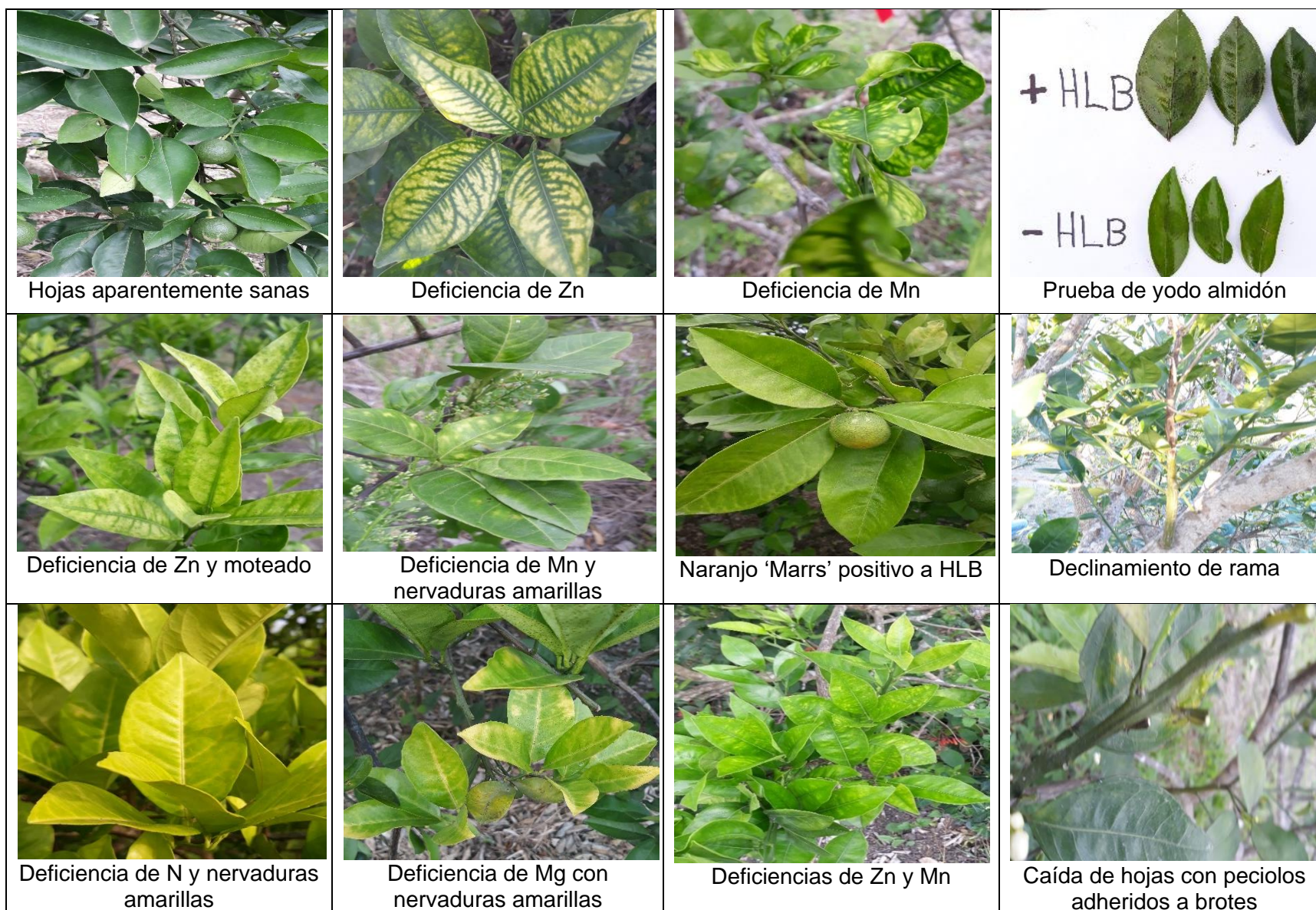
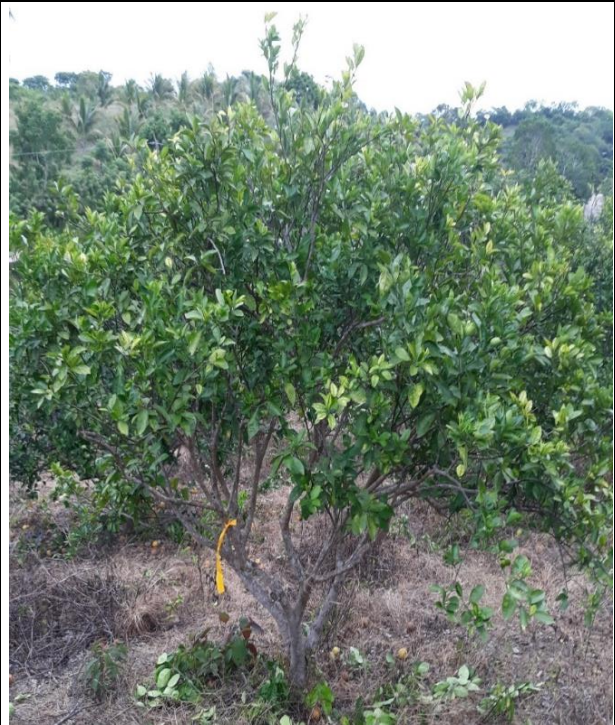


Figura A1. Síntomas visuales en árboles de naranjo 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*), en Cazones de Herrera, Veracruz, México.



Árbol asintomático con prueba positiva a VTC



Árbol con síntomas ligeros



Árbol asintomático con prueba positiva a HLB



Árbol con síntomas avanzados, con prueba positiva a VTC y HLB

Figura A2. Naranjos 'Marrs' (*Citrus sinensis* / *C. volkameriana*) con diferentes grados de síntomas de VTC y HLB, en Cazones de Herrera, Veracruz, México.