

FERTILIZACIÓN INTEGRAL EN ÁRBOLES DE NARANJO 'MARRS' EN PRODUCCIÓN CON SÍNTOMAS DEVIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CITRICOS (VTC) Y HUANGLONGBING (HLB)

INTEGRAL FERTILIZATION IN 'MARRS' ORANGE TREES UNDER PRODUCTION WITH CITRUS TRISTEZA VIRUS (CTV) AND HUANGLONGBING (HLB) SYMPTOMS

Luis M. Hernández-Morales¹, Eliseo García-Pérez^{2*}, José I. Cortés-Flores³, Ángel Villegas-Monter¹ y José A. Mora-Aguilera⁴

¹Colegio de Postgraduados (CP), Campus Montecillo, Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Fruticultura, Texcoco, Estado de México, México. ²CP, Campus Veracruz, Tepetates, Veracruz, México. ³CP, Edafología, Texcoco, Estado de México, México. ⁴CP, Fitopatología, Texcoco, Estado de México, México.

*Autor de correspondencia (geliseo@colpos.mx)

RESUMEN

En México, la producción de naranja es amenazada por la incidencia de enfermedades que afectan la producción. La nutrición balanceada constituye una alternativa para mantener productivos a los árboles y atenuar el daño por fito-parásitos. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la fertilización química, orgánica y combinada tanto al suelo como foliar sobre la producción de naranjos Marrs (*Citrus sinensis/C. volkameriana*) con incidencia del virus tristeza de los cítricos (VTC) y Huanglongbing (HLB) confirmada por PCR. El estudio se realizó de agosto 2018 a diciembre 2019 en Cazones, Veracruz, México en una plantación comercial con árboles de seis años. Por la topografía irregular se trabajó en la parte baja y alta del terreno, en árboles con tres grados de síntomas de VTC y HLB. El diseño experimental utilizado fue bloques completos al azar en arreglo de parcelas divididas, con tres repeticiones. Las variables evaluadas fueron la incidencia de VTC y HLB, floración, número de frutos y rendimiento. La mayor incidencia de VTC (47%) y de HLB (64.7%) se encontró en la parte baja del terreno. Los árboles asintomáticos y con síntomas ligeros de ambas enfermedades presentaron mayor floración y número de frutos en la fase inicial. La fertilización química (100 N-22 P₂O₅-195 K₂O-30 MgO) y combinada (50 % química más 10 kg de composta) aplicada al suelo, más fertilización foliar con sulfato de zinc, hierro, cobre, manganeso y bórax incrementaron la floración hasta 96 flores por m² de dosel en la parte alta del terreno, y hasta 89 frutos por rama primaria en la fase inicial de crecimiento. El rendimiento por árbol fue muy bajo (5 a 12 kg), por efecto de una sequía atípica en la región durante la fructificación. La incidencia y severidad de VTC y HLB, aunado al estrés hídrico limitan la producción del naranjo Marrs.

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

SUMMARY

In Mexico, orange production is threatened by the incidence of diseases that affect production. Balanced nutrition is an alternative to keep trees productive and reduce damage by plant parasites. The objective of this study was to evaluate the effect of chemical, organic and combined fertilization both on the soil and foliage on the production of Marrs orange trees (*C. sinensis/C. volkameriana*) with incidence of citrus tristeza virus (CTV) and Huanglongbing (HLB) as confirmed by PCR. The study was conducted from August 2018 to December 2019 in Cazones, Veracruz, Mexico in a commercial plantation with six-year-old trees. Due to the irregular topography, the study was carried out in the lower and upper part of the field, in trees with three degrees of CTV and HLB symptoms. The experimental design used was randomized complete blocks in split plot arrangement with three replications. Variables evaluated

were the incidence of CTV and HLB, flowering, number of fruits and yield. The highest incidence of CTV (47%) and HLB (64.7%) was found in the lower part of the field. Asymptomatic trees with mild symptoms of both diseases presented higher flowering and number of fruits in the initial phase. Chemical fertilization (100 N-22 P₂O₅-195 K₂O-30 MgO) and combined (50 % chemical plus 10 kg of compost) applied to the soil, plus foliar fertilization with zinc sulfate, iron, copper, manganese and borax increased flowering up to 96 flowers per m² of canopy in the upper part of the field, and up to 89 fruits per primary branch in the initial phase of growth. The yield per tree was very low (5 to 12 kg), due to an atypical drought in the region during fruiting. The incidence and severity of CTV and HLB, along with water stress, limit the production of the Marrs orange tree.

Index words: *Citrus sinensis*, fertilization, production, symptoms of CTV and HLB.

INTRODUCCIÓN

En México, la producción de cítricos es fuente importante de ingresos, y Veracruz es el principal estado productor, con 169,500 ha. Se cultivan principalmente árboles de naranja Valencia, Washington Navel y Marrs, con rendimiento promedio de 15 t ha⁻¹; sin embargo, en los últimos seis años, el rendimiento ha disminuido hasta 10 t ha⁻¹ en naranjo Marrs (SIAP, 2018), atribuible a diversos factores bióticos y abióticos, como el incremento en el pH del suelo, niveles bajos de nutrimentos, falta de humedad y temperaturas altas (García-Mina, 2012), además del incremento en la presencia de plagas y el complejo de enfermedades (Durán, 2016).

Recientemente se ha observado amarillamiento de brotes, pérdida de vigor y muerte prematura de los árboles, los cuales corresponden a síntomas relacionados principalmente con la incidencia del virus tristeza de los cítricos (VTC); éstos se presentan con mayor frecuencia 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 del *Citrus tristeza virus* (CTV) se favorece cuando se adquiere material vegetativo en establecimientos no certificados y por vectores como *Toxoptera citricida*, *Aphis gossypii* y *Diaphorina citri* (Villegas y Mora, 2011). En otros casos se ha demostrado que el uso de naranjo agrio (*Citrus aurantium*) como portainjerto ocasiona que los árboles sean más vulnerables al VTC (Contreras *et al.*, 2019). La infección por VTC (Müller *et al.*, 2005) y CLas (Achor *et al.*, 2010) inducen taponamiento de haces vasculares del floema durante la patogénesis, llegando a generar desbalances nutrimentales (Lacroix *et al.*, 2017) por Zn y Mn (Arce *et al.*, 2019); además, la infección por CLas reduce el desarrollo de raíces con crecimiento primario (Hamido *et al.*, 2019) y el número de frutos por m² de dosel, el peso y tamaño, así como la cantidad de jugo y, en consecuencia, afecta el rendimiento y la calidad (Robles-González *et al.*, 2017). La virulencia del VTC depende de la presencia de temperatura alta en el ambiente y de las variantes de razas presentes (Müller *et al.*, 2005). El metabolismo del N es afectado negativamente (García-Mina, 2012), provocando formación de hojas pequeñas y floración alternante (Müller *et al.*, 2005). Durán (2016) observó que la floración de naranjos infectados por VTC puede ser precoz y abundante, aunque con bajo amarre de fruto, frecuentemente pequeños y deformes, de color marrón y pueden estar totalmente secos y adheridos a las ramas muertas.

La infección combinada de CLas y VTC ejercen efecto sinérgico en el debilitamiento del árbol. También, se consigna alteración en la expresión normal de genes relacionados con la formación de 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 foliar de N, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn y Cu en árboles de mandarina (*Citrus reticulata*) reduce significativamente la expresión de síntomas de HLB (Pustika *et al.*, 2008).

El manejo agronómico que integra prácticas de riego, poda de ramas y fertilización al suelo también mitiga los síntomas (Xia *et al.*, 2011). En México, existen pocas evidencias en el manejo de VTC con mejoras en la nutrición; Rodríguez *et al.* (2014) mencionan que la aspersion de Zn y Mn incrementa el rendimiento del naranjo Valencia Late. También, la aplicación combinada de sulfato de amonio, fosfato monoamónico y nitrato de potasio al suelo y follaje incrementó la producción de frutos de naranja Valencia y Tangor Murcott [*C. reticulata* Blanco × *C. sinensis* (L.)

Osbeck] (Alayón *et al.*, 2014). En este contexto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la fertilización química, orgánica y combinada al suelo y foliar sobre la producción de árboles de naranjo Marrs (*Citrus sinensis*/*Citrus volkameriana*) con incidencia de VTC y HLB confirmada por PCR.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y material vegetal

El estudio se realizó de agosto 2018 a diciembre 2019 en un huerto de naranjo Marrs/*C. volkameriana* de seis años de edad, en condiciones de temporal, en la comunidad de Rancho Nuevo, en Cazonos 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, con temperatura media anual de 23 °C y precipitación anual de 1314 mm. Debido a la topografía irregular del terreno, los árboles se seleccionaron en la parte baja y alta, en función de tres grados de síntomas 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; los árboles con síntomas avanzados presentaron vigor escaso (ramas secas, defoliación, clorosis internerval, moteado clorótico en hojas jóvenes y maduras, y frutos secos del ciclo anterior) (Figura 1).

Durante el desarrollo de frutos del ciclo 2017-2018 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 sales cuaternarias (Timsen®) al terminar la poda de cada árbol. En la brotación vegetativa y floral del ciclo 2018-2019 se aplicó tiametoxam (Actara®) a razón de 1 g L⁻¹ de agua, asperjado al follaje para el control de áfidos en general y *Diaphorina citri* Kuwayama. El control de arvenses se realizó con la aplicación de saflufenacil (Heat®) a dosis de 0.15 g L⁻¹ de agua, con motobomba SOLO®.

Diseño de tratamientos y experimental

Se evaluaron seis tratamientos de fertilización, resultantes de los factores de estudio fertilización al suelo en tres presentaciones: química (FQS), orgánica (FOS) y su combinación (FCS); y la fertilización química foliar (FQF) y orgánica foliar (FOF), como se describe en seguida:

1. Fertilización química foliar (FQF) + Fertilización química al suelo (FQS).

2. Fertilización química foliar (FQF) + Fertilización orgánica al suelo (FOS).
3. Fertilización química foliar (FQF) + Fertilización combinada al suelo (FCS).
4. Fertilización orgánica foliar (FOF) + Fertilización química al suelo (FQS).
5. Fertilización orgánica foliar (FOF) + Fertilización orgánica al suelo (FOS).
6. Fertilización orgánica foliar (FOF) + Fertilización combinada al suelo (FCS).

El diseño experimental fue bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas con tres repeticiones. La parcela grande fue la fertilización foliar y la parcela chica la fertilización al suelo. La unidad experimental fue un árbol de naranja y la integración de los bloques se realizó con base al grado de síntomas asociados a VTC y HLB: asintomático, ligero y avanzado.

Determinación de fórmulas y dosis de fertilización

Previamente se realizaron muestreos de suelo (MS) y hojas (MH) para análisis de nutrimentos. El MS se realizó durante el desarrollo intermedio de frutos, se obtuvieron dos muestras compuestas 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 se realizó posterior a la cosecha del ciclo 2017-2018 y fue dirigido a árboles asintomáticos, con síntomas ligeros y avanzados en cada parte del huerto. En total se obtuvieron seis muestras compuestas por seis árboles (una por grado de síntomas), a una altura de 1.60 m y distribuida en los cuatro puntos cardinales del árbol. El análisis de suelo y

hoja se realizó en el laboratorio de Fertilab®, en Celaya, Guanajuato, México y en ambos se determinó el contenido de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu y B en mg kg⁻¹ para conocer el suministro del suelo y el estatus nutrimental del árbol. A partir del suministro del suelo menos la demanda nutrimental del árbol y multiplicada por la eficiencia de recuperación del fertilizante se diseñó el programa de fertilización, incluyendo la aplicación de S elemental al suelo a razón de 400 g por árbol. La Fertilización Química al Suelo (FQS) se derivó a partir de los nutrimentos que se extraen por una tonelada de fruto y el rendimiento meta de 25 toneladas de fruto ha⁻¹ (Durán, 2016). Por lo anterior, la fórmula general fue: 100 N – 22 P₂O₅ – 195 K₂O – 30 MgO. Para su aplicación se usaron los siguientes fertilizantes: 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. La dosis por hectárea se calculó con la ecuación:

$$\text{Dosis de fertilizante (kg ha}^{-1}\text{)} = \frac{\text{requerimiento del fertilizante (kg ha}^{-1}\text{)}}{\text{contenido del elemento (\%)}} \times (100)$$

El resultado fue dividido entre una densidad de plantación de 400 árboles. Se hicieron 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 fertilización orgánica al suelo (FOS) consistió en la aplicación de composta que contenía 0.06 % NO₃, 0.18 % P₂O₅, 1.12 % K₂O, 0.13 % MgO, 0.39 % CaO y 17 % de

A

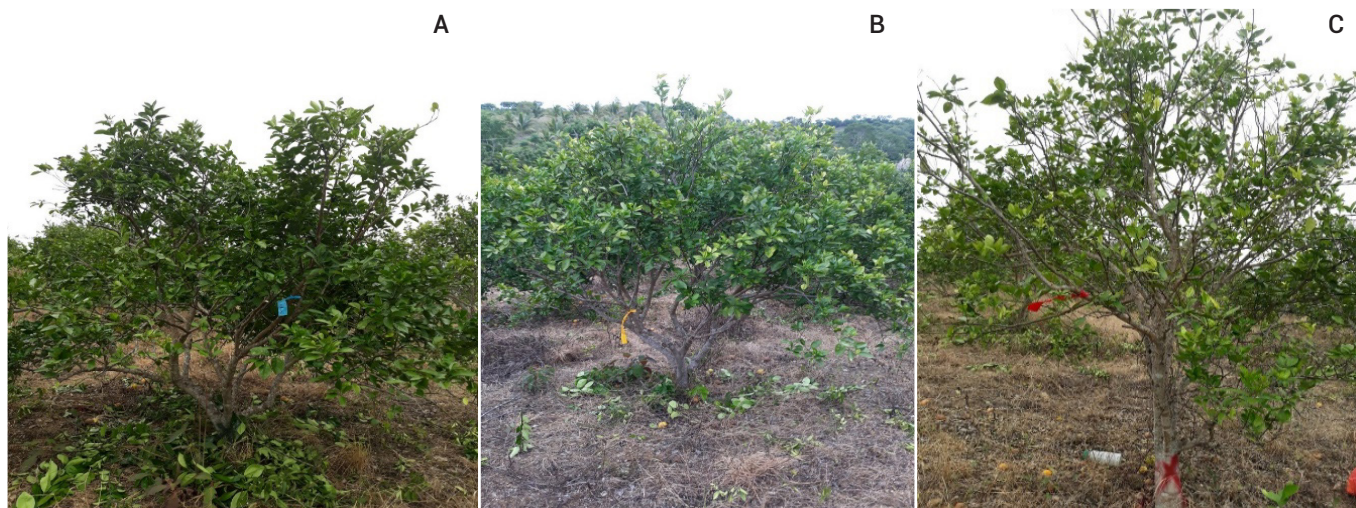


Figura 1. Naranjos 'Marrs'/*C. volkameriana* asintomáticos (A), con síntomas ligeros (B) y avanzados (C), asociados a VTC y HLB, al inicio del experimento, en Cazonos de Herrera, Veracruz.

materia orgánica (MO). La dosis se calculó empleando la ecuación $MO = [\text{carbono} (\%)] \times 1.724$, considerando el 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-RECNAT-2000 (SEMARNAT, 2002). La dosis por hectárea se fraccionó entre 400 árboles, cada uno recibió 10 kg de composta.

La fertilización combinada al suelo (FCS) consistió en aplicar el 50 % de la FQS y el 100 % de la FOS; es decir, se aplicó la fórmula $50 \text{ N} - 11 \text{ P}_2\text{O}_5 - 97.5 \text{ K}_2\text{O} - 15 \text{ MgO}$ más 10 kg de compost por árbol. La fertilización química, orgánica y combinada al suelo se aplicó después de la cosecha del ciclo 2017-2018, en la mitad del área de goteo orientada al oeste; y otra durante el desarrollo intermedio de frutos orientada al este, e incorporados a una profundidad de 30 cm, con pala recta. La 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 g L^{-1} respectivamente. Se adicionó DAP-PLUS® a razón de 1 mL L^{-1} para acidular a pH de 5.4. La fertilización orgánica foliar (FOF) fue el biofertilizante "Biol Supermagro" elaborado en la región de estudio, con contenido de 0.21 % Zn, 0.06 % B, 0.02 % Cu, 0.02 % Fe y 0.0037 % Mn, con pH de 4.95. La concentración fue de 33 mL L^{-1} . En total, se realizaron cuatro aplicaciones de fertilización química y orgánica al follaje a dosis de 500 mL por árbol 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.

Muestreo de hojas para confirmación de VTC y HLB por PCR

Se realizó después de la cosecha del ciclo 2017-2018; se obtuvieron 36 muestras en total, 18 en cada parte del terreno, y cada árbol fue una muestra, que consistió en recolectar ocho hojas (dos por orientación cardinal), se etiquetaron y trasladaron al laboratorio de Cultivo in Vitro del Posgrado de Fruticultura del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Se realizó extracción de ácidos nucleicos de las nervaduras de las hojas, de acuerdo con el protocolo de extracción de ADN de Dellaporta *et al.* (1983), la concentración y pureza de los ácidos nucleicos se verificaron con NanoDrop™ 2000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Para la detección de VTC se utilizó RT-PCR punto final con los iniciadores CPKF (5'-AACGCCCTTCGAGTCTGGGGTAGGA-3') y CPKR (5'-TCAACGTGTGTTGAATTTCCAAGC-3')

(Rivas-Valencia *et al.*, 2008), y PCR directa para CLAs con los iniciadores O1I (5'-GCGCGTATGCAATACGAGCGGCA-3') y O2c (5'-GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT-3') (Jagoueix *et al.*, 1996). Los productos de PCR obtenidos del virus y la bacteria se visualizaron en gel de agarosa 2 % adicionado con bromuro de etidio, a 88 V durante 1 h. El gel se observó y fotografió en un transiluminador (Quantum ST5®, Vilver Lourmat, Collégien, Francia). Las muestras que resultaron positivas se enviaron a Macrogen Corp. (Corea del Sur) para ser 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>) para verificar la presencia de ambos patógenos, las cuales coincidieron en 100% de identidad con *Citrus tristeza virus* y *Candidatus Liberibacter asiaticus*.

Variables de estudio

Se determinó la incidencia del virus VTC y la bacteria HLB (confirmada por PCR) en el total de las muestras foliares recolectadas en cada una de las secciones experimentales del terreno (parte baja y alta). Se registró la floración, con un marco de madera (40 × 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 (inicio la floración), finalizando el 15 de abril de 2019 (fin de la floración) en las orientaciones este y oeste del dosel a 150 cm de altura; el total de flores dentro del marco de madera, se extrapoló a un metro cuadrado de dosel. Se hicieron conteos del número de frutos por rama, 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). Finalmente, se evaluó el rendimiento; la cosecha se realizó el 2 de octubre de 2019; se recolectaron frutos con diferentes grados de maduración y se depositaron en rejas de plástico de 25 kg; se registró el peso total de todos los frutos por árbol, usando una báscula digital Torrey® (México).

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SAS versión 9.1 para Windows (SAS Institute, 2004). A cada variable se le realizó un ANOVA y comparación de medias con la prueba de Tukey con $P \leq 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Incidencia de VTC y HLB

La incidencia de VTC fue de 47 % y de HLB de 64.7 % en la parte baja del huerto. En contraste, la parte alta

presentó incidencia de 17.6 y 29.4 % respectivamente. Los porcentajes se consideran altos, y es probable que en el siguiente año se alcance el 100 % de incidencia debido a la infección progresiva que se observa en la región centro norte de Veracruz (Contreras *et al.*, 2019). La mayor incidencia en la parte baja del terreno puede deberse a que hay mayor disponibilidad de humedad y nutrientes que son lixiviados y, en consecuencia, hay más brotes suculentos, los cuales son más atractivos para los vectores de VTC (*Toxoptera citricida* y *Aphis gossypii*) y HLB (*Diaphorina citri*) (Villegas y Mora, 2011).

Floración

El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) entre bloques para los síntomas de VTC y HLB, en ambas partes del terreno. A los 15 y 30 días después de inicio de la floración (DDIF), los árboles asintomáticos presentaron mayor número de flores por m² de dosel (Cuadros 1 y 2); esto indica que la sanidad del árbol es factor determinante para una floración normal. Se ha documentado que la incidencia de VTC en naranjos puede adelantar la floración (Durán, 2016). En naranjo Marrs sin síntomas visuales de VTC o HLB, reportan 72 flores por m² de dosel en floración plena, misma 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 estudio. La fertilización al suelo y foliar no afectó el desarrollo de la floración en la parte baja del terreno, mientras que en la parte alta se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) a los 15 y 30 DDIF; en general, la FQF más FQS superaron en número de flores a los otros tratamientos (Cuadros 1 y 2). Schumann *et al.* (2019) sugieren que la fertilización en cítricos se debe ajustar a las condiciones específicas del suelo y estatus nutricional del árbol.

La floración y producción de frutos de naranja Valencia y Tangor Murcott (*C. reticulata* × *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 (Alayón *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2014) debido a la rápida respuesta en periodos de sequía y a la aplicación oportuna de nutrientes en los periodos de mayor demanda de los árboles (García-Mina, 2012). Por otra parte, la fertilización orgánica también ha resultado apropiada en naranjos en producción (Salgado-García *et al.*, 2015); sin embargo, con el proceso de mineralización que requiere, puede no coincidir con la demanda alta de nutrientes (Monsalve *et al.*, 2017). Esto puede explicar la menor respuesta de la FOF más FOS y FCS en el número de flores; es decir, que la disponibilidad de nutrientes no coincidió con el periodo de mayor demanda de los árboles; además, los patógenos

Cuadro 1. Número de flores por m² de dosel en árboles de naranjo Marrs/*C. volkameriana* con diferente grado de síntomas asociados a VTC y HLB y tratamientos de fertilización, parte baja del terreno.

Factores de estudio	Periodo de floración		
	Inicio de la floración	15 DDIF [*]	30 DDIF
Número de flores m ⁻² de dosel			
Síntomas			
Asintomática	67 b	97 a	119 a
Ligera	121 a	64 b	28 b
Avanzada	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 en las columnas dentro de cada factor de estudio no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). ^{*}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 2 Número de flores por m² de dosel en árboles de naranjo Marrs/*C. volkameriana* con diferente grado de síntomas asociados a VTC y HLB y tratamientos de fertilización, parte alta del terreno.

Factores de estudio	Periodo de floración		
	Inicio de la floración	15 DDIF [†]	30 DDIF
Número de flores m ⁻² de dosel			
Síntomas			
Asintomática	7 b	43 a	91 a
Ligera	2 b	25 a	96 a
Avanzada	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 en las columnas dentro de cada factor de estudio no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). [†]DDIF: días después de inicio de la floración; ^{**}Pr > F: nivel de significancia estadística.

provocan desbalances nutrimentales por taponamiento de los haces vasculares del floema durante la patogénesis (Lacroix *et al.*, 2017).

Número de frutos por rama primaria

Hubo diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) entre el grado de síntomas asociados con VTC y HLB y los tratamientos de fertilización en el número de frutos por rama en las dos áreas del terreno. Los árboles asintomáticos y con síntomas ligeros superaron significativamente con 92 y 74 frutos por rama primaria, respectivamente, a los árboles con síntomas avanzados que tuvieron 53 frutos; además, la FQF + FCS fueron superiores en número de frutos a la FOF + FOS (Cuadro 3). El HLB disminuyó el número de frutos por árbol en limón mexicano (*C. aurantifolia*) (Robles-González *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 (Pustaka *et al.*, 2008) y se incrementa en número de frutos por rama (El-Aidy *et al.*, 2018). Respecto a VTC, son pocos los trabajos que abordan el manejo de la enfermedad con nutrición eficaz del árbol; no obstante, se ha observado aumento en el número de frutos de naranja Valencia con fertilización de nitrato de amonio, sulfato de potasio y superfosfato, así como con la combinación química a 50 % más 15 kg de compost (El-Aidy *et al.*, 2018).

Rendimiento

Se encontraron diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$) entre bloques, asociadas al grado de síntomas de VTC y HLB, pero no con la fertilización en ambas partes del terreno. Los árboles asintomáticos rindieron 6 kg en la parte baja del terreno y 12 kg en la parte alta, superando a los que mostraron síntomas avanzados (Cuadro 4). El naranjo Marrs en condiciones óptimas puede producir hasta 63 kg de fruto por árbol con 10 años de edad (Medina *et al.*, 2007). Otros reportes señalan rendimiento 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 (El-Aidy *et al.*, 2018; Trinchera *et al.*, 2015). Los rendimientos extremadamente bajos que se obtuvieron en el presente estudio puede explicarse por una sequía atípica que ocurrió durante el desarrollo del fruto (marzo a septiembre de 2019), misma que causó estrés hídrico persistente, hojas con diferentes grados de marchitez y enrollamiento durante el día (Figura 2A). Estas condiciones afectaron la disponibilidad, absorción y translocación de nutrimentos a los sitios de demanda (García-Mina, 2012), afectando la retención de frutos como se muestra en la Figura 2B. Los árboles con síntomas ligeros y avanzados del complejo VTC y HLB presentaron progresivamente frutos necrosados, completamente secos, endurecidos y adheridos a las ramas (Figura 2 C), similares a los síntomas descritos por Durán (2016) en

árboles afectados por VTC. De acuerdo con Fu *et al.* (2017), 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. Estas evidencias muestran que el estrés hídrico, aunado a la incidencia y severidad del complejo VTC y HLB son factores que limitan drásticamente el rendimiento de frutos en naranjos Marrs.

CONCLUSIONES

La incidencia máxima de VTC en árboles de naranjo

Marrs fue de hasta 47 % y para HLB de 64.7 %, en árboles con severidad media y alta. Los árboles asintomáticos y con síntomas ligeros de VTC y HLB tuvieron las mejores respuestas en floración, número de frutos y rendimiento. La fertilización química y combinada al suelo (50 % química más 10 kg de compost), más fertilización química foliar favorecieron la floración con más de 72 flores por m² de dosel y de 72 a 89 frutos por rama primaria en la fase inicial de crecimiento, principalmente en la parte alta del terreno. La incidencia y severidad de VTC y HLB, aunado al estrés hídrico limitan la producción de naranjo Marrs.

Cuadro 3. Número de frutos por rama primaria en árboles de naranjo Marrs/*C. volkameriana* con diferente grado de síntomas asociados a VTC y HLB y tratamiento de fertilización.

Factores de estudio	Parte baja de huerto	Parte alta del huerto
	Número de frutos por rama	
Síntomas		
Asintomática	92 a	13 a
Ligera	74 a	19 a
Avanzada	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 en las columnas dentro de cada factor de estudio no son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05).

Cuadro 4. Rendimiento de frutos por árbol de naranjo Marrs/*C. volkameriana* con diferente grado de síntomas asociados a VTC y HLB y tratamientos de fertilización.

Factores de estudio	Parte baja del terreno	Parte alta del terreno
	kg de fruto por árbol	
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	5.43 a	10 a
FQF + FOS	4.93 a	7 a
FQF + FCS	5.38 a	7 a
FOF + FQS	5.10 a	6 a
FOF + FOS	5.00 a	6 a
FOF + FCS	5.06 a	7 a
Pr > F	0.7681	0.3075

Medias con letras iguales en las columnas dentro de cada factor de estudio no son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05).



Figura 2. Síntomas de estrés hídrico en hojas (A), caída de frutos (B) y necrosamientos asociados a VTC (C) en naranjo Marrs en el sitio experimental en Cazones de Herrera, Veracruz, México.

BIBLIOGRAFÍA

- Achor D. S., E. Etxeberria, N. Wang, S. Y. Folimonova, K. R. Chung and L. G. Albrigo (2010) Sequence of anatomical symptom observations in citrus affected with Huanglongbing disease. *Plant Pathology Journal* 9:56-64, <https://doi.org/10.3923/ppj.2010.56.64>
- 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 UNCuyo* 46:87-96.
- 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.
- 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, Acuicola, Pesquera, Desarrollo Rural, Transferencia de Tecnología, Biotecnología, Ambiente, Recursos Naturales y Cambio Climático. V. J. C. Vinay, V. A. Esqueda E., O. H. Tosquy V., R. Zetina L., A. Ríos U., M. V. Vázquez H., ... y C. Perdomo M. (comps.). INIFAP, CP, UACH, INAPESCA, UV, TecNM. Medellín, Veracruz, México. pp:2296-2312.
- Dellaporta S. L., J. Wood and J. B. Hicks (1983) A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1:19-21, <https://doi.org/10.1007/BF02712670>
- Durán R. F. (2016) Cultivo y Explotación de Cítricos. Grupo Latino Editores S.A.S. Bogotá, Colombia. 549 p.
- 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. *Journal of Productivity and Development* 23:111-134, <https://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* 18:837, <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4174-8>
- García-Mina J. M. (2012) Plant nutrition and defense mechanism: Frontier knowledge. In: Advances in Citrus Nutrition. A. K. Srivastava (ed). Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp:1-12. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4171-3_1
- Hamido S. 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* 8:298, <https://doi.org/10.3390/plants8090298>
- Jagoueix S., 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, <https://doi.org/10.1006/mcpr.1996.0006>
- Lacroix C., E. W. Seabloom and E. T. Borer (2017) Environmental nutrient supply directly alters plant traits but indirectly determines virus growth rate. *Frontiers in Microbiology* 8:2116, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02116>
- Medina U. V. M., G. Zapiain 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, <https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5663>
- Müller G. W., M. L. P. N. Targon, S. A. Carvalho, A. A. de Souza e J. C. V. Rodrigues (2005) Doenças de citros causadas por vírus e viróides. In: Citros. D. D. Matos Junior, J. D. De Negri, R. M. Pio e J. Pompeu Junior (eds). Intermídia Produções Gráficas. São Paulo, Brasil. 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, <https://doi.org/10.1007/BF03211261>
- Rivas-Valencia P., E. Loeza-Ku, G. Mora-Aguilera, V. Febres, D. Ochoa-Martínez, M. A. Gutiérrez Espinosa, ... y N. Arno-Wulff (2008) Estructura poblacional de aislamientos del Citrus tristeza virus y su asociación con la muerte súbita de los cítricos en Brasil. *Agrociencia* 42:85-93.
- Robles-González M. M., M. Orozco-Santos, M. A. Manzanilla-Ramírez, J. J. Velázquez-Monreal y S. H. Carrillo-Medrano (2017) Efecto del HLB sobre el rendimiento de limón mexicano en Colima, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8:1101-1111, <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i5.111>
- 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-García S., D. J. Palma-López, J. Zavala-Cruz, S. Córdova-Sánchez, M. Castelan-Estrada, L. C. Lagunes-Espinoza, ... y J. A. Rincón-Ramírez (2015) Programa de fertilización sustentable para plantaciones de cítricos en Tabasco, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 3:345-356.
- SAS Institute (2004) SAS/STAT 9.1 User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA. 5121 p.
- Schumann A., L. Waldo, T. Vashisth, A. Wright and K. Morgan (2019) Critical leaf nutrient thresholds to diagnose deficiencies in HLB trees. *Citrus Industry* 100:20-25.
- SEMARNAT, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2002) Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación, 31 de diciembre de 2002. México, D.F.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2018) Anuario estadístico de la producción agrícola. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Enero 2019).
- Trinchera A., B. Torrisi, 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 rees. *Acta Horticulturae* 1065:1807-1813, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1065.231>
- Villegas M. A. y A. Mora A. (2011) Avances de la fruticultura en México. *Revista Brasileira de Fruticultura* Volumen Especial E:179-186, <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000500021>
- 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* 12:1003, <https://doi.org/10.1094/PHP-2010-1003-01-RV>.