




UNIVERSIDAD DE MATANZAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



**RESULTADOS DE LA APLICACIÓN DE
MICROORGANISMOS EFICIENTES EN PLANTAS
DE NARANJO VALENCIA [*Citrus sinensis* (L.) Osb.]
EN JAGÜEY GRANDE**

**Tesis presentada en opción al
Título de Master en Ciencias Agrícolas**

Autor: Ing. Yosiel Díaz Mondejas

Tutores: Dr. C. Miguel Aranguren González

MSc. Alina Puente Sánchez

Matanzas

2019



UNIVERSIDAD DE MATANZAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**RESULTADOS DE LA APLICACIÓN DE MICROORGANISMOS
EFICIENTES EN PLANTAS DE NARANJO VALENCIA
[*Citrus sinensis* (L.) Osb.] EN JAGÜEY GRANDE**

**Tesis presentada en opción al
Título de Master en Ciencias Agrícolas**

Autor: Ing. Yosiel Díaz Mondejas

Tutores: Dr. C. Miguel Aranguren González

MSc. Alina Puente Sánchez

Matanzas

2019

DEDICATORIA

A mi familia...

AGRADECIMIENTOS

- De forma especial a toda mi familia que siempre me ha estimulado en mis ansias de superación.
- A la Empresa Agroindustrial Victoria de Girón por darnos la oportunidad de superarnos.
- A todos los profesores de la Universidad de Matanzas por su dedicación.
- A mis tutores el Dr.C. Miguel Aranguren González y la MSc. Alina Puente Sánchez, por su apreciable contribución.
- A todos mis compañeros de trabajo que me alentaron para salir adelante.

A todos muchas gracias

RESUMEN

El desarrollo de la enfermedad Huanglongbing de los cítricos (HLB) en las plantaciones y el deterioro de las plantas asociado a esta enfermedad ha propiciado la búsqueda de alternativas de diferentes tipos para mejorar sus efectos y poder convivir con esta enfermedad aun incurable. Se ha trabajado en la respuesta de las plantas a la fertilización diferenciada con disminución de los síntomas de deficiencias nutricionales asociados al HLB y el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de aplicaciones con microorganismos eficientes (ME) en los componentes de la producción y calidad de los frutos. En una plantación de naranjo 'Valencia' [*Citrus sinensis* (L.) Osb.], se aplicaron tres tratamientos de aplicaciones foliares de ME (1L, 3L y 5L de ME por mochila) en comparación con las aplicaciones de rutina de la empresa aplicadas solas o combinadas con los ME. En cada tratamiento se determinó el estado nutricional foliar, la floración, fructificación, cuajado, producción y calidad de los frutos. Las aplicaciones a dosis de 3L de ME por mochila incrementaron el número de frutos por planta sin variaciones en los niveles foliares de los elementos nutricionales N, P y K. Se apreció un mejor estado visual de la plantación por efecto de los tratamientos (hojas más verdes), en las plantas con síntomas asociados al HLB. La mayor producción de frutos por planta y acidez se logró en los tratamientos con dosis de 3L y 5L de ME. Se lograron mayores ganancias con las aplicaciones de ME en árboles de naranjo 'Valencia' y esto puede resultar en una alternativa a incorporar en el manejo del HLB en cítricos.

Palabras clave: bioestimuladores, floración, cuaje, producción, calidad, cítricos.

INDICE	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. El cultivo de los cítricos	3
2.1.1. El Huanglongbing de los cítricos.....	6
<u>2.1.1.1. Síntomas foliares</u>	<u>8</u>
<u>2.1.1.2. Síntomas y daños en frutos</u>	<u>9</u>
2.2. Empleo de bioestimulantes en la agricultura.....	11
2.2.1. Acción de los bioestimulantes.....	13
2.2.2. Tipos de bioestimulantes	16
2.2.3. Bioestimulantes a base de aminoácidos.....	16
2.2.4. Bioestimulantes a base de algas pardas	17
2.2.5. Bioestimulantes a base de bacterias	18
2.3. Microorganismos eficientes (ME)	19
2.3.1. Aspectos generales de los ME	19
2.3.2. Composición microbiológica de EM.....	19
<u>2.3.2.1. Levaduras (<i>Saccharomyces</i> spp. y otras).....</u>	<u>19</u>
<u>2.3.2.2. Bacterias fotosintéticas (<i>Rhodospirillum rubrum</i> spp).....</u>	<u>20</u>
<u>2.3.2.3. Bacterias ácido lácticas (<i>Lactobacillus</i> spp).....</u>	<u>20</u>
<u>2.3.2.4. Actinomicetes.....</u>	<u>20</u>
2.3.3. Aplicaciones de los Microorganismos eficientes.....	20
<u>2.3.3.1. Empleo general en la agricultura</u>	<u>20</u>
<u>2.3.3.2. Aplicaciones al suelo de microorganismos eficientes</u>	<u>22</u>
2.3.4. Influencia de los Miroorganismos Eficientes en los rendimientos	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
3.1. Localización de los experimentos y material vegetal.....	27
3.2. Manejo agronómico general de las plantaciones	27
3.3. Diseño experimental.....	27
3.4. Efecto de las aplicaciones de ME en el estado nutricional de las plantas.....	28
3.5. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la floración y el cuaje.....	28
3.6. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la producción.....	29

3.7. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la calidad de los frutos	29
3.8. Análisis económico de las aplicaciones de ME	29
3.9. Análisis estadístico y programa empleado	30
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1. Efecto de las aplicaciones de ME en el estado nutricional de las plantas	31
4.2. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la floración y el cuaje.....	33
4.3. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la producción.....	35
4.4. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la calidad de los frutos	37
4.5. Análisis económico de las aplicaciones de ME	39
5. CONCLUSIONES	41
6. RECOMENDACION	42
7. BIBLIOGRAFÍA	43
8. ANEXOS	60

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha ganado terreno el desarrollo de productos naturales amigables con el medio ambiente para su empleo en la agricultura. Las investigaciones y los trabajos de campo en todos los continentes demostraron que la inoculación de cultivos de Microorganismos Eficientes (ME) al ecosistema suelo/planta mejora la calidad de los suelos, el crecimiento, el rendimiento y la calidad de los cultivos (Mesa *et al.*, 2013).

Según Coutinho (2011) el principio fundamental de los microorganismos eficientes consiste en introducir en el suelo, un grupo de microorganismos benéficos para mejorar su condición, logrando, a través de ellos, mejorar la eficacia en la utilización de la materia orgánica en la producción agrícola.

Los microorganismos eficientes son mezclas de diferentes tipos de microorganismos (levaduras, bacterias fotosintéticas, bacterias ácido lácticas y actinomicetes), todos ellos benéficos para las plantas y el ecosistema y al ser incorporados al suelo cumplen funciones en la fermentación, la producción de sustancias bioactivas, la competencia y antagonismo con patógenos, y ayudan a mantener un equilibrio natural entre los microorganismos que conviven en el entorno, trayendo efectos positivos en el crecimiento y desarrollo del cultivo y por consiguiente en el rendimiento y beneficio económico (Ramírez, 2006).

Esta tecnología ha sido ampliamente estudiada en numerosos países, y se han realizado trabajos para su aplicación y generalización en diversos cultivos. Sin embargo, no se tienen referencias de su empleo en el cultivo de los cítricos.

La Empresa Agroindustrial “Victoria de Girón”, ubicada en Jagüey Grande, provincia de Matanzas, se considera la más importante del país. Sus producciones de cítricos constituyen más del 60% de la producción nacional y ofrece fuente de empleo a más de 6 500 personas (Aranguren, 2009). Es una de las empresas más desarrolladas en cuanto a su cadena agro-industrial, logrando tener desde sus viveros hasta su

combinado industrial para la producción de jugos y frigorífico propio (Anaya *et al.*, 2016).

En los últimos años con la aparición del Huanglongbing (HLB) se ha observado un decrecimiento de las producciones cítricas en Jagüey Grande, así como un deterioro del estado de sus plantaciones en las que persiste una clorosis que resulta más evidente en el período de escasas lluvias. Teniendo en cuenta el empeoramiento de la situación fitosanitaria y su efecto sobre la producción cítrica, así como la necesidad de una recuperación financiera a corto plazo se buscan alternativas que permitan la sostenibilidad del cultivo.

Tales premisas conducen a plantear el siguiente **problema científico**: ¿Se pueden disminuir el deterioro de las plantaciones, elevar la producción y la calidad de los frutos en plantaciones de naranjo 'Olinda Valencia' [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] con el empleo de Microorganismos Eficientes?

A partir de este problema se formuló la **hipótesis**: El empleo de Microorganismos Eficientes en árboles de naranjo 'Olinda Valencia' [*Citrus sinensis* (L.)], pudiera elevar la producción y calidad de los frutos.

Objetivo general: Evaluar la influencia de los Microorganismos Eficientes en la producción y la calidad de los frutos en plantaciones de naranjo 'Olinda Valencia'.

Objetivos específicos:

- Analizar la influencia de las aplicaciones foliares de naranjo 'Olinda Valencia' en la floración, fructificación y el cuaje de los frutos.
- Determinar el efecto de las aplicaciones foliares de los Microorganismos Eficientes en la producción y calidad de los frutos.
- Determinar la factibilidad económica del empleo de los Microorganismos Eficientes como complemento a la tecnología en naranjo 'Olinda Valencia'.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. El cultivo de los cítricos

Los cítricos constituyen el tercer cultivo frutal de mayor importancia en todo el mundo, después de la manzana y el plátano, debido a su papel en los hábitos alimenticios de gran parte de la población mundial (Singh y Rajam, 2009; Talon y Gmitter, 2008). Son utilizados en la alimentación por su alto valor nutricional y en la industria farmacéutica y de cosméticos por su contenido de aceites esenciales. Constituyen un importante complemento de la dieta humana debido al elevado contenido de vitaminas, minerales, azúcares y otros compuestos que contienen según González, 1999, citado por Cueto (2009).

Los cítricos son frutos de gran valor comercial que se han distribuido ampliamente por regiones tropicales y subtropicales del mundo, donde su cultivo ha representado una vía importante para diversificar la economía de diferentes naciones, con la obtención de ganancias que respaldan el continuo crecimiento de la producción y la exportación, a partir de la comercialización de frutos frescos y subproductos. Brasil, Estados Unidos y China, acumulan más del 40% de la producción mundial, mientras que Cuba se ubica en el lugar 17 entre los países productores, y junto a los Estados Unidos e Israel entre los principales proveedores de pomelos (FAO, 2003 a, b).

Las condiciones insulares de Cuba, su ubicación geográfica en la región tropical, la permanencia de los cítricos y los elementos del agroecosistema, son factores que favorecen el desarrollo de insectos, ácaros y microorganismos, que afectan el desarrollo vegetativo, el rendimiento y la calidad del fruto cítrico según González, 1999, citado por Cueto (2009).

El Programa de Cítricos en Cuba, se inició en el año 1968 con el objetivo de realizar exportaciones al campo socialista e incrementar el consumo interno, a un costo de 600 millones de pesos. A partir de la década de los sesenta, la citricultura cubana tuvo un crecimiento vertiginoso, la producción representó 66 200 t en una superficie

de alrededor de 70 000 ha, existiendo un incremento sustancial de producción y de área plantada (Cueto, 2009).

La productividad de los cítricos, al igual que todas las plantas cultivadas, está estrechamente ligada a sus disponibilidades de agua a lo largo de su ciclo vegetativo. Como constituyente esencial del protoplasma, el agua puede suponer hasta un 95% del peso total de algunas especies vegetales y la mayor parte de los procesos fisiológicos que realizan, están influidos directa o indirectamente por su abastecimiento (Del Amor, 2001).

Podemos decir que el agua, constituye uno de los elementos más importantes para la producción agrícola, por tal motivo es importante asegurar un suministro adecuado, no solo en cantidad, sino en disponibilidad a lo largo del ciclo del cultivo (Del Amor, 2001).

Existe un conjunto de factores que influyen en el crecimiento adecuado de las plantas, entre los que se pueden citar las condiciones nutricionales y el clima. Las condiciones climáticas de Cuba son favorables para lograr rendimientos aceptables y no significa por tanto un impedimento real, sin embargo, el suelo no posee la riqueza en nutrientes, necesaria para lograr producciones óptimas (Borroto y Borroto, 1991).

La fertilización o nutrición, algunos autores la definen como el conjunto de relaciones existentes entre la planta y determinados componentes químicos, se puede clasificar en: hídrica, carbonada y mineral. De acuerdo con esta clasificación, las plantas para lograr un buen desarrollo requieren de 16 elementos esenciales, sus deficiencias reducen drásticamente el crecimiento y provocan síntomas visuales que son superables con el suministro del nutrimento (IIFT, 1999)

Es esencial para la obtención de altos rendimientos en los cítricos la aplicación de nitrógeno, fósforo y potasio. Es sin dudas, primordial para el desarrollo vegetativo y la producción de los cítricos (Del Amor, 2001). Los suelos no poseen generalmente cantidades suficientes para garantizar por sí solos altas producciones agrícolas de forma continuada; por lo que las aplicaciones de fertilizantes son una condición

determinante para alcanzar buenos resultados en la agricultura moderna, (Rodríguez, 1997).

La sostenibilidad y eficiencia de la agroindustria de este cultivo a nivel mundial está amenazada por la rápida expansión de enfermedades de alto impacto económico. En apenas tres décadas la situación fitosanitaria se ha visto comprometida por la rápida diseminación de algunas enfermedades tales como cancrisis, tristeza, leprosis; la introducción en países del área del Caribe de enfermedades y vectores como Huanglongbing (HLB) y su vector *Diaphorina citri* Kuw.; el agravamiento de los efectos de enfermedades como black spot y otras enfermedades producidas por hongos y por viroides, así como la presencia de nuevas enfermedades como clorosis variegada y muerte súbita (Roistacher, 2003 citado por Luis *et al.*, 2009), que son tanto o más dañinas que la tristeza en algunos casos y de otras ya conocidas.

Teniendo en cuenta el empeoramiento de la situación fitosanitaria en el continente y en Cuba y su efecto sobre la producción citrícola, así como la necesidad de una recuperación financiera a corto plazo. La dirección del país aprobó un programa de desarrollo con el objetivo de que este posibilitará el cambio hacia una citricultura intensiva y sostenible. Caracterizando las áreas actuales de producción en cada circuito para la atención tecnológica de las que posean potencial para mantener e incrementar los rendimientos. Las áreas no seleccionadas son atendidas solamente para la cosecha de sus producciones residuales, manteniéndose bajo control fitosanitario hasta su demolición (Cueto, 2009).

En el 2011, estos cultivos cubren una extensión de 45 800 ha, con un rendimiento promedio de 5,35 t.ha⁻¹ y una producción anual de 2 451 toneladas de frutas (FAOSTAT, 2011). Estos bajos rendimientos en la producción citrícola se deben, fundamentalmente, al efecto negativo que ejercen los factores climáticos y la alta incidencia de plagas en estos cultivos (Singh y Rajam, 2009).

Cada año las temperaturas altas y el aumento de la frecuencia, magnitud e intensidad de las olas de calor causan considerables pérdidas económicas en diversos cultivos (Saidi *et al.*, 2011; Long y Orthu, 2010). Producto del calentamiento

global se estima que el promedio de temperatura puede incrementarse entre 3-6°C para el año 2100, lo cual causaría serios daños económicos en la producción citrícola, sobre todo en períodos lluviosos, donde se incrementa significativamente la incidencia de plagas. De ahí que la prioridad básica y las inversiones en el sector están dirigidas al fomento de plantaciones de cítricos con especies tolerantes a las principales enfermedades frecuentes de la región y a elevar la eficiencia industrial de sus producciones (Prévez y Sánchez, 1997 y Ferragut y Ochoa, 2012).

2.1.1. El Huanglongbing de los cítricos

En el siglo XVIII se describió un problema severo en los cítricos de las provincias centrales de la India que recibió el nombre de muerte regresiva (Capoor, 1963). Se desconocía la causa de este declinamiento.

Posteriormente, Reinking (1919) hizo una breve descripción del amarillamiento y un moteado foliar que apareció en el Sur de China. Se supo después que los campesinos de esta área de China conocían la enfermedad y la llamaban “huanglongbing” (HLB) desde finales del siglo XIX (Zhao, 1981). Este nombre se había traducido al inglés como “yellow dragon disease” (enfermedad del dragón amarillo) (Halbert y Manjunath, 2004a), pero Zhao (1981) le llamó en inglés “yellowshootdisease” (enfermedad del brote amarillo), y más recientemente Zhao (2006) confirmó que este es el significado correcto.

El Sur de China, se considera como el área de origen de la forma asiática de la enfermedad, sin embargo, descripciones realizadas anteriormente sobre la muerte regresiva aparecida en la India indican que dicha enfermedad estuvo presente allí anteriormente. Capoor (1963) atribuyó la muerte regresiva al virus de la tristeza de los cítricos tras realizar algunos estudios de indexing biológico, pero Raychaudhuri *et al.* (1969); Raychaudhuri *et al.* (1974) demostraron después que el HLB era un componente fundamental del problema.

Husain y Nath (1927) describieron un declinamiento y muerte de los cítricos en Punjab que atribuyeron a daños ocasionados por psílidos al alimentarse de la planta,

sin embargo, probablemente se debió al HLB, especialmente por su descripción de “fruta insípida”, este pudiera ser el primer reporte de un insecto asociado con el problema. Ahora parece probable que el HLB se haya establecido en la India antes de diseminarse a China.

Beattie *et al.* (2006) dieron a conocer recientemente su hipótesis de que la enfermedad realmente pudo haberse originado en África, posiblemente en un hospedante asintomático como *Verpris lanceolata*. Pudo haberse transmitido por un insecto a los cítricos en un asentamiento europeo de la costa oriental de África, y de allí, haberse trasladado al subcontinente en plantas o material de propagación infectado hace 300 o 500 años; y posteriormente a China.

Esto pudiera explicar por qué el HLB no se reportó en China con anterioridad, a pesar de que los cítricos se cultivaron allí durante miles de años (Zhang, 1981). Otro asunto a considerar en este sentido es que un declinamiento similar al del HLB apareció en escritos de La India sólo en el siglo XVIII (Husain y Nath, 1927).

Desde los años 20, se describen otras nuevas enfermedades de los cítricos en numerosos países de Asia, todas con síntomas similares o idénticos a los del HLB. En Filipinas, se reportó la enfermedad del moteado amarillo (Lee, 1921), “likubin” en Taiwán alrededor de 1930 y la degeneración del floema en Indonesia durante los años 40. El HLB se convirtió en un problema serio en China en 1935 (Lin, 1963), mientras que en Filipinas no se reportó como un grave problema hasta 1957 (Martínez y Wallace, 1967). En Indonesia, se destruyeron tres millones de árboles entre 1960 y 1970 (Tirtawidjaja, 1980). En la India el HLB se describió en los años 60 como el causante de pérdidas catastróficas (Fraser *et al.*, 1966).

En 1929 citricultores sudafricanos informaron de un trastorno similar (Van der Merwe y Andersen, 1937; Oberholzer *et al.*, 1965). En el noroeste del país lo llamaron “rama amarilla”, mientras que en el Noreste, en un lugar próximo a una estación experimental abierta recientemente en Nelspruit, la llamaron “greening” (enverdecimiento) debido a un mal desarrollo del color amarillo en el fruto (Van der Merwe y Andersen, 1937).

El término “greening” se acuñó por la literatura científica probablemente debido a la proximidad de los científicos de Nelspruit, y no fue hasta 1955 que en el Congreso de la Asociación Internacional de Virólogos de Cítricos (IOCV), celebrado en China, se tomó la decisión de adoptar oficialmente el término original en chino “huanglongbing” (Moreno *et al.*, 1996).

Durante muchos años se consideró que la enfermedad era causada más por deficiencias, toxicidades, e inundación, que por un patógeno. Lin (1956) demostró su transmisibilidad por injerto. Posteriormente se demostró que el HLB era transmitido por injerto (McClellan y Oberholzer, 1965b), así como por el psílido *Trioza erytreae* Del Guercio (McClellan y Oberholzer, 1965a).

Poco después, experimentos realizados en la India y Filipinas demostraron que otra especie de psílido, *Diaphorina citri* Kuwayama, también era vector de la enfermedad en Asia (Capoor *et al.*, 1967; Martínez y Wallace, 1967).

Antes del año 2004, se sabía que el HLB estaba presente en Asia, que había entrado al este de Japón a través del Sur de China, el sureste asiático y que también se encontraba en el subcontinente Indio hasta Pakistán. También existe en la península Arábiga, pero no en Irán. En África, puede encontrarse en todo el este, la parte central y sur; mientras que en Brasil, América, sólo se detectó el vector *D. citri* (Halbert y Núñez, 2004).

En el 2004, se detectó el HLB en São Paulo, Brasil (Colleta-Filho *et al.*, 2004; Teixeira *et al.*, 2005a); luego en el 2005 en La Florida (Halbert, 2005), y ya en el 2007 se informó también su presencia en Cuba. Estos hechos evidencian y justifican las preocupaciones expresadas sobre las amenazas que enfrentan los cítricos.

2.1.1.1. Síntomas foliares

Los síntomas del HLB varían y pueden aparentar otros trastornos. Sin embargo, hay algunas características únicas. Un árbol que se infecta en el campo suele desarrollar uno o más brotes amarillos, de aquí el nombre de la enfermedad. Si otras partes del árbol permanecen sanas o asintomáticas, la enfermedad asumirá una apariencia

sectorizada. Las hojas afectadas desarrollan un patrón de áreas amarillas y verdes, carentes de límites claros entre estas coloraciones, dando una apariencia “moteada con manchas asimétricas” (McClellan y Schwarz, 1970).

Este moteado suele ser asimétrico en relación al nervio central de la hoja y constituye el síntoma foliar más característico. Las hojas también pueden manifestarse más gruesas y coriáceas, con nervaduras alargadas y corchosas en su apariencia. En etapas posteriores, pueden aparecer síntomas de deficiencia de zinc, seguidas de la caída de hojas y muerte regresiva de las ramitas finas (Bové, 2006).

2.1.1.2. Síntomas y daños en frutos

En las plantas enfermas se presenta una excesiva caída de frutos. Los frutos con síntomas son pequeños, torcidos y en la medida que maduran el extremo estilar permanece verde, de aquí el nombre de “greening” (enverdecimiento). En el interior de los frutos pueden observarse semillas abortadas de color oscuro, y los haces vasculares en el eje del fruto son decolorados. La fruta, especialmente las naranjas dulces, también pueden tener una apariencia moteada, y si la corteza se hunde al presionarla con un dedo, surgirá un área hundida color plateada (McClellan y Schwarz, 1970).

La expresión de los síntomas depende de las condiciones climáticas, el huésped infectado y la raza de *Candidatus Liberibacter*. Aunque los síntomas son generalmente los mismos, la forma asiática se considera más severa ya que la muerte regresiva puede ser más fuerte, y eventualmente puede provocar la muerte del árbol. Esta es además, tolerante al calor; mientras que la africana no es capaz de resistir temperaturas por encima de los 30°C, por lo que sólo se encuentra infectando cítricos plantados en elevaciones por encima de los 700 m, mientras que la asiática sobrevive en áreas calientes y bajas (Gottwald, 2010).

La forma americana recién descubierta en Brasil (Teixeira *et al.*, 2005a) es muy similar al tipo asiático en cuanto a expresión de síntomas y severidad; sin embargo,

las pruebas hechas en Brasil demuestran que es intolerante al calor, similar al tipo africano.

La enfermedad HLB se considera la más destructiva para los cítricos y se encuentra ampliamente diseminada en el continente americano (Bove, 2006, 2008; Gottwall, 2010). Se asocia a bacterias fastidiosas gram negativas, restringidas al floema (Garnier y Bové, 1983), que hasta el momento no han podido ser cultivadas en medios artificiales. Sin embargo, recientemente se ha informado el mantenimiento por tiempo prolongado de la forma asiática en medios enriquecidos con jugos cítricos (Parker *et al.*, 2014).

Aunque los postulados de Koch no han sido cumplimentados, se acepta que la enfermedad es causada por tres especies del género *Liberibacter*, denominadas según la región en donde se han encontrado, *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas), *Ca. L. africanus* (CLaf) y *Ca. L. americanus* (CLam) (Garnier *et al.*, 2000; Teixeira *et al.*, 2005; Bové, 2006.). Además, se han informado, dos fitoplasmas en plantas de cítricos asociados con sintomatología similar a la causada por estas bacterias, uno en Brasil y otro en China (Teixeira *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2009). El genoma de CLas ha sido secuenciado completamente informándose una talla de aproximadamente 1,22 Mb (Duan *et al.*, 2009).

Los síntomas característicos de la enfermedad son: las hojas con moteado asimétrico, los nervios cloróticos y engrosados, en ocasiones corchosos. En estados avanzados de la enfermedad, las hojas jóvenes afectadas son pequeñas y erectas (“orejas de conejo”), con clorosis intensa o deficiencias nutricionales. Los síntomas varían de acuerdo al tiempo de infección, la etapa de la enfermedad, y pueden ser confundidos con los síntomas que aparecen en otras enfermedades o con carencias de nutrientes como zinc, hierro y manganeso (Bové, 2006).

Schneider *et al.* (1968) y Achor *et al.* (2010) plantean la hipótesis de que producto de los bloqueos del floema se crea una reserva de almidón en niveles extremadamente altos; este factor es uno de los que contribuye a la textura coriácea de dichas hojas. La acumulación excesiva de almidón provoca la desintegración del sistema de

tilacoides de los cloroplastos y causa el síntoma característico de moteado asimétrico en las hojas con HLB. El contenido de almidón en las hojas afectadas con HLB puede llegar a ser 20 veces mayor que el de los árboles sanos (Takushi *et al.*, 2007; Achor *et al.*, 2010).

El HLB se informó en Cuba en el año 2007, asociada a la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* (Llauger *et al.*, 2008) y transmitida por *Diaphorina citri* Kuwayama, que está presente desde 1999, con poblaciones en todo el país (González *et al.*, 2007). Posteriormente en el período 2007-2008 se comprobó mediante la técnica de diagnóstico de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) la presencia de este patógeno en todas las áreas citrícolas comerciales y el sector residencial (Luis *et al.*, 2009).

2.2. Empleo de bioestimulantes en la agricultura

En agricultura, los bioestimulantes se definen como aquellos productos que son capaces de incrementar el desarrollo, producción y/o crecimiento de los vegetales. Otros autores lo definen como fertilizantes líquidos que ejercen funciones fisiológicas al aplicarlos a los cultivos, así como, son moléculas biológicas que actúan potenciando determinadas expresiones metabólicas y/o fisiológicas de las plantas (González *et al.*, 2015).

Ríos (2017) plantea que los microorganismos eficientes aplicados a plantas pueden:

- Aumentar la resistencia natural de las plantas contra plagas y enfermedades.
- Consumir los exudados de raíces, hojas, flores y frutos reduciendo la propagación de organismos patógenos y el desarrollo de enfermedades.
- Incrementar el crecimiento, calidad y productividad de los cultivos.
- Promover la floración, fructificación y maduración por sus efectos hormonales en zonas meristemáticas.
- Incrementar la capacidad fotosintética por medio de un mayor desarrollo foliar.

Según Chiriboga (2011), determinó que la aplicación de bioestimulantes en el cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.) si influyeron significativamente en las variables: altura de planta, diámetro y longitud de los bulbos y rendimiento.

Según Lara (2009), en la evaluación de bioestimulantes foliares en el cultivo de soya (*Glycine max* L.), las variables, número de vainas por planta y peso de 100 semillas, fueron influenciadas de manera positiva y significativa.

Finalmente, se reporta que para elaborar un programa de nutrición vegetal con base a bioestimulantes hay que establecer pruebas de efectividad de los productos. “Ubicar lotes representativos de prueba y medir las cosechas contra testigos para determinar el costo beneficio que resulte con y sin la utilización de los bioestimulantes. El uso de productos no debe de representar un gasto. Se debe de recuperar la inversión y debe de existir un beneficio adicional. Una vez comprobado esto puede incorporarlo a sus programas de nutrición (Zarate, 2012).

Diversos autores cubanos han tratado las potencialidades del uso de los bioestimulantes (Martínez *et al.*, 2010; Torrientes, 2010 y Dibut *et al.*, 2011). Sin embargo, los resultados de la ciencia y la innovación sobre bioestimulantes no son ampliamente aplicados por los productores agropecuarios en Cuba, ni en la mayor parte de los países subdesarrollados (Martínez y Da, 2012).

Esta situación impulsó que se creara en Cuba en los años 90 el Programa Gubernamental de Biofertilizantes, Bioplaguicidas y Bioestimulantes, en función de incrementar la investigación, producción y disponibilidad de estos productos al servicio de una agricultura con bases sostenibles, a través de las capacidades acumuladas en el país desde el surgimiento y desarrollo de la red de producción biofertilizantes y bioestimuladores (Dibut *et al.*, 2011).

Además del efecto biocontrolador de patógenos, se ha comprobado que la inoculación de *T. harzianum* aporta otros beneficios a las plantas; a través de la descomposición de materia orgánica, libera nutrientes en formas disponibles para la planta (Howell, 2003 y Godes, 2007). Presenta actividad solubilizadora de fosfatos

(Vera *et al.*, 2002; Valencia *et al.*, 2007 y Valero, 2007), por lo cual se utiliza frecuentemente como un organismo biofertilizante en diferentes productos comerciales (Moreno *et al.*, 2007). Promueve el crecimiento y desarrollo de los cultivos produciendo metabolitos que estimulan los procesos de desarrollo vegetal (Sutton y Peng, 1993). Tiene la capacidad de multiplicarse en el suelo y colonizar las raíces de las plantas liberando factores de crecimiento (auxinas, giberelinas y citoquininas) que estimulan la germinación y el desarrollo de las plantas. Produce sustancias que actúan como catalizadores o aceleradoras de los tejidos meristemáticos primarios en las partes jóvenes de la planta, acelerando su reproducción celular. Estas permiten que las plantas se desarrollen más rápido en comparación con plantas que no han sido tratadas con dicho microorganismo. También ha sido reportado como promotor del crecimiento vegetal en cultivos de berenjena, arveja, frijol, café, tomate, pimientos papa, vid y especies forestales, entre otros (Valencia *et al.*, 2007).

2.2.1. Acción de los bioestimulantes

En los últimos años se han incrementado las investigaciones y estudios básicos, a fin de esclarecer el papel biológico de los bioestimulantes en determinadas especies vegetales, así como su relación con el crecimiento y desarrollo de plantas, y su empleo para mejorar la calidad de diferentes procesos (González *et al.*, 2015).

La respuesta a las prácticas de aplicación exógena de los bioestimulantes, está en correspondencia con la influencia de diversos factores, entre ellos, la disponibilidad a nivel intracelular en forma libre o conjugada (Rampey *et al.*, 2004). Los reguladores del crecimiento vegetal actúan a muy bajas concentraciones en los procesos fisiológicos de las plantas, y cuando no se aplican los niveles requeridos, se pueden inducir alteraciones fisiológicas que, a su vez, pueden causar cambios morfológicos de significación (Shirani *et al.*, 2009).

La disponibilidad de auxinas en los tejidos vegetales puede regularse a través de su tasa de síntesis, la velocidad de transporte entre órganos y los diferentes mecanismos de desactivación, dentro de ellos, la conjugación con otras moléculas

como azúcares o aminoácidos (Marques *et al.*, 2001). Algunos estudios evidencian la presencia de conjugados auxínicos, detectados en semillas y plántulas como tal (Staswick *et al.*, 2005) siendo estos conjugados reversibles, a diferencia de la degradación que sí constituye un proceso irreversible. Estos aspectos corroboran la relación entre el metabolismo y el mecanismo de acción hormonal en plantas, implicado directamente en todas las fases de desarrollo (Taiz y Zeiger, 2006).

Diversas investigaciones demuestran la producción de sustancias con efecto regulador del crecimiento vegetal por parte de bacterias y su impacto en diferentes procesos asociados al desarrollo y crecimiento de plantas (Compant *et al.*, 2010; Adesemoye y Kloepper, 2009; Hernández *et al.*, 2010 y Pedraza *et al.*, 2010).

En este sentido, la necesidad de desarrollar estudios que faciliten la selección y el empleo de las dosis adecuadas de estos productos, son los objetivos que se persiguen en cuanto a procesos a inducir y al cultivo en cuestión, ya que son repuestas que en gran medida están en correspondencia con la especie y el estado fisiológico de la planta (González *et al.*, 2015).

En este sentido, al emplear el bioestimulante *Azotobacter chroococcum*, en posturas de la especie *Coffea arabica* L., se obtuvo mejor comportamiento al realizar la aplicación en el momento del trasplante y en el primer par de hojas (Bustamante *et al.*, 2010). Asimismo, al emplear un biopreparado de origen bacteriano a partir de *Burkholderia cepacia* Palleroni y Holme, durante las fases de crecimiento y desarrollo de plántulas de café de *Coffea canephora* P. cv. 'Robusta', se obtuvieron resultados favorables para los indicadores número de pares de hojas, altura de la planta y masa seca (González *et al.*, 2011).

De igual modo, han sido informadas respuestas positivas en diferentes cultivos como arroz (*Oryza sativa*) y maíz (*Zea mays*) al emplear bioproductos obtenidos a partir de otras especies de bacterias estimulantes del crecimiento vegetal (Hernández *et al.*, 2010 y Pedraza *et al.*, 2010).

En este sentido, estudios precedentes corroboran las potencialidades de diversos géneros bacterianos (Pedraza *et al.*, 2010 y Bustamante *et al.*, 2010), así como efectos beneficiosos del tratamiento con biopreparados obtenidos a partir de los mismos (Hernández *et al.*, 2010 y González *et al.*, 2011), en diferentes estados físicos y fisiológicos de los microorganismos; y utilizando diversas formas de aplicación sobre índices morfofisiológicos de plántulas de café (Adriano *et al.*, 2011; Bustamante *et al.*, 2010 y González *et al.*, 2011), apreciándose mayor crecimiento y porcentaje de supervivencia en las plantas tratadas.

Dichos efectos se atribuyen al aporte de sustancias bioestimuladoras del crecimiento, tales como auxinas, citoquininas, giberelinas, aminoácidos y vitaminas, que permiten la aceleración del desarrollo en plantas (Adesemoye y Kloepper, 2009).

Estos comportamientos indican la respuesta favorable del material vegetal a la bioestimulación, y que la efectividad de los tratamientos con biopreparados de origen bacteriano está en dependencia de la concentración de los mismos, la especie, cultivar o genotipo en estudio y el momento y forma de aplicación.

Según Nuñez (1998), los bioestimulantes activan, sin alterar los procesos naturales del metabolismo de las plantas. Su forma de actuar se concreta básicamente en dos formas que son:

- a) Aumenta el nivel de prolina, este aumento se produce en el interior de las plantas proporcionándole una mayor defensa frente a los estados de estrés, bien sea hídrico, térmico, por enfermedad o plaga entre otros. Proporcionando grupos tiónicos (-SH) a la planta.
- b) La expresión externa de esta potenciación se traduce en un efecto benéfico sobre:
 - La producción, con incrementos de la cosecha acompañados de una mejor calidad de los frutos y de otros aspectos relacionados con los mismos como coloración, tersura de la piel, uniformidad y aumento de tamaño, menor pérdida de peso pos-cosecha, entre otros.

- La vegetación, proporcionando un mejor desarrollo vegetativo y mayor vigor en las brotaciones, así como un aumento de la masa radicular.

2.2.2. Tipos de bioestimulantes

Los bioestimulantes son moléculas de muy amplia estructura, que pueden estar compuestos en base a hormonas o extractos vegetales metabólicamente activos, como aminoácidos y ácidos orgánicos. Son utilizados principalmente para incrementar el crecimiento y rendimiento en plantas, así como para sobrellevar periodos de estrés (Jorquera y Yuri, 2006).

2.2.3. Bioestimulantes a base de aminoácidos

Los aminoácidos son compuestos orgánicos que contienen un grupo amino [NH_2] y un grupo carboxilo [COOH]. Veinte de estos compuestos son los constituyentes de las proteínas, conocidos como alfa-aminoácidos y son los siguientes: alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina. Los grupos amino y carboxilo se encuentran unidos al mismo átomo de carbono, y ligado a él se encuentra un grupo variable (R). Es en dichos grupos R donde las moléculas de los 20 alfa-aminoácidos se diferencian unas de otras (Sanabria, 2011).

Los aminoácidos constituyen la base fundamental de cualquier molécula biológica, y son compuestos orgánicos. No puede realizarse proceso biológico alguno, sin que en alguna fase del mismo intervengan los aminoácidos. Son moléculas orgánicas ricas en nitrógeno y constituyen las unidades básicas de las proteínas. También son el punto de partida para la síntesis de otros compuestos, tales como vitaminas, nucleótidos y alcaloides (Jorquera y Yuri, 2006).

El uso de aminoácidos en cantidades esenciales es bien conocido como un medio para aumentar la producción y la calidad total de cosechas. Aunque las plantas tienen la capacidad por si solas de sintetizar todos los aminoácidos que necesita a partir del nitrógeno, carbono, oxígeno e hidrógeno el proceso bioquímico es muy

complejo y consumidor de energía; por lo que, la aplicación de aminoácidos permite un ahorro de energía y un mejor desempeño de la planta en etapas críticas donde requiere elementos altamente disponibles para realizar sus funciones (Angulo, 2009).

2.2.4. Bioestimulantes a base de algas pardas

Algunos de los bioestimulantes de origen natural más usados en nuestra agricultura son derivados de algas marinas. Estos productos basan su éxito en la recuperación de los elementos hormonales y/o nutricionales de los cultivos acuáticos, para ser aplicados en los cultivos agrícolas (Carrera y Canacuán, 2011).

Las algas pardas de grandes dimensiones: especies de los géneros *Laminaria* y *Ascophyllum* en Europa, *Sargassum* en países más cálidos como Filipinas, son las más utilizadas (Medjdoub, 2012).

El efecto de los extractos líquidos de algas, más que como abono (que no lo es, atendiendo a que su aporte mineral es mínimo), consiste principalmente en la estimulación de sistema radicular y en general, en la estimulación del vigor de la planta. Los extractos líquidos de algas son bioestimulantes (estimuladores del desarrollo y del sistema inmunitario y de defensa de la planta). Los principales disparadores (elicitores) de las reacciones metabólicas que generan la bioestimulación de la planta están compuestos por unos tipos especiales de azúcares (oligosacáridos: moléculas compuestas entre 7 y 25 monómeros de azúcar) que se encuentra en las paredes celulares de las algas (García, 2005).

2.2.4. Bioestimulantes a base de ácidos fúlvicos

Los bioestimulantes nutricionales son complejos de abonos foliares especiales de enmiendas de sustancias húmicas (ácidos húmicos y fúlvicos) líquidas, que se define como un bioestimulante que activa, sin alterar, los procesos naturales del metabolismo de las plantas (Gallardo, 1998 citado por FUMEX, 2012).

Los ácidos fúlvicos son fracciones activas solubles en ácidos fuertes. Constituyen una serie de compuestos sólidos o semisólidos, amorfos, de color amarillento y naturaleza coloidal, fácilmente dispersables en agua y no precipitables por los

ácidos, susceptibles en cambio de experimentar floculación en determinadas condiciones de pH y concentración de las soluciones de cationes no alcalinos. Son de muy rápida asimilación por las plantas debido a sus conformaciones estructurales simples y pequeñas, actuando como bioestimulantes. Según FUMEX (2012), entre las principales ventajas de utilizar ácido fúlvico en agricultura se encuentran:

- Regula el pH de la solución.
- Favorece el crecimiento de las plantas.
- Facilita la absorción de nutrientes que, por su naturaleza, son difícilmente absorbidos por las plantas.
- Sirve como bioestimulante.
- Estimula la división celular y el crecimiento de las plantas.
- Aumenta la resistencia de las plantas a la sequía.
- Hace más eficaz la recuperación de cultivos.
- Mejora los suelos.
- Promueve la formación de ácidos nucleicos.

2.2.5. Bioestimulantes a base de bacterias

La obtención de productos eficientes, a partir de bacterias con propiedades benéficas, representa una alternativa de gran interés (Thirumala *et al.*, 2010; Compant *et al.*, 2010 y Baset *et al.*, 2010), y en especial para el desarrollo de cultivos de importancia económica en el contexto de una agricultura sustentable (Adesemoye y Kloepper, 2009; Hernández *et al.*, 2010 y Lara *et al.*, 2010).

Estos bioproductos contribuyen de manera más efectiva a la supervivencia y crecimiento de los cultivos, pues reducen los efectos negativos del estrés asociado a la nutrición, las relaciones con el agua, la estructura del suelo, el pH, los metales pesados y los patógenos (Kuffner *et al.*, 2008). Investigaciones recientes apuntan al Bioenraiz®, obtenido a partir de una cepa de *Rhizobium* sp., como nuevo bioproducto

regulador del crecimiento vegetal, debido a evidencias científicas que muestran que, dada su composición química a base de auxinas, juega un importante papel en la germinación de semillas y posterior desarrollo de las plántulas (Beiro *et al.*, 2007 citado por Hernández *et al.*, 2010).

2.3. Microorganismos eficientes (ME)

2.3.1. Aspectos generales de los ME

El ME contiene una mezcla de diferentes tipos de microorganismos (levaduras, bacterias fotosintéticas, bacterias ácido lácticas y actinomicetes), todos ellos benéficos para las plantas y el ecosistema. La fermentación, la producción de sustancias bioactivas, la competencia y antagonismo con patógenos, son algunas de las cualidades que estos microorganismos presentan y ayuda a mantener un equilibrio natural entre los microorganismos que conviven en el entorno, trayendo efectos positivos para la salud y el ecosistema (Ramírez, 2006).

En la agricultura los ME se han utilizado para enriquecer el suelo y producir cultivos de calidad, sanos, con un mayor rendimiento, con menos enfermedades ó plagas sin el uso de productos químicos agrícolas (Higa y Wood, 2009).

Actualmente su uso se ha extendido a aplicaciones en los campos de medio ambiente, industria y salud. Según Higa y Wood (2009), la tecnología del ME se puede considerar una tecnología natural que no tiene efectos adversos sobre las plantas, animales, seres humanos o el medio ambiente según las experiencias de más de una década de aplicación.

2.3.2. Composición microbiológica de ME

2.3.2.1. Levaduras (*Saccharomyces* spp. y otras)

Las levaduras sintetizan sustancias antimicrobianas y otras sustancias útiles que ayudan a promover la división celular para el crecimiento de las plantas, a partir de aminoácidos y azúcares secretados por las bacterias fotosintéticas, la materia orgánica y las raíces de las plantas (Biosca, 2001; EARTH, 2008).

2.3.2.2. Bacterias fotosintéticas (*Rhodopseudomonas* spp)

Las bacterias fotosintéticas o fototróficas son un grupo de microorganismos independientes y autosuficientes. Estas bacterias sintetizan sustancias útiles a partir de las secreciones de las raíces, materia orgánica y/o gases nocivos (sulfuro de hidrógeno), usando la luz solar y el calor del suelo como fuentes de energía. Las sustancias útiles son: aminoácidos, ácidos nucleicos, sustancias bioactivas y azúcares que promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas (Biosca, 2001; EARTH, 2008).

2.3.2.3. Bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus* spp)

Las bacterias ácido lácticas producen ácido láctico a partir de azúcares y otros carbohidratos desarrollados por las bacterias fotosintéticas y levaduras. El ácido láctico, como agente altamente esterilizador, suprime microorganismos patógenos e incrementa y acelera la transformación de la materia orgánica, mejorando así el medio ambiente para el crecimiento de los cultivos (Biosca, 2001).

2.3.2.4. Actinomicetes

Funcionan como antagonistas de muchas bacterias y hongos patógenos de las plantas, debido a que producen antibióticos, efectos biostáticos y biácidas). Benefician el crecimiento y actividad del azotobacter y de las micorrizas (APNAM, 2003).

2.3.3. Aplicaciones de los Microorganismos eficientes

2.3.3.1. Empleo general en la agricultura

Según Brock y Madigan (1993) y Campo *et al.* (2014) el uso de microorganismos eficientes aplicados en semilleros puede generar los siguientes efectos:

En los semilleros permiten el aumento de la velocidad y porcentaje de germinación de las semillas, por su efecto hormonal, similar al del ácido giberélico. Además el aumento del vigor y crecimiento del tallo y raíces, desde la germinación hasta la emergencia de las plántulas, por su efecto similar a las rizobacterias las cuales son

promotoras del crecimiento vegetal. Así como el incremento de las probabilidades de supervivencia de las plántulas, por la inoculación del sustrato con microorganismos antagonicos a enfermedades y hongos patógenos.

En las plantas los microorganismos eficientes aplicados pueden: aumentar la resistencia natural de las plantas contra plagas y enfermedades, consumir los exudados de raíces, hojas, flores y frutos reduciendo la propagación de organismos patógenos y el desarrollo de enfermedades. Incrementar el crecimiento, calidad y productividad de los cultivos, promover la floración, fructificación y maduración por sus efectos hormonales en zonas meristemáticas e incrementar la capacidad fotosintética por medio de un mayor desarrollo.

Señalan además Brock y Madigan, (1993) y Campo *et al.* (2014) que los efectos de los microorganismos en el suelo están enmarcados en el mejoramiento de las características físicas, químicas y biológicas, la supresión de enfermedades, así como la aceleración de la descomposición natural de los residuos orgánicos dejados en el campo después de la cosecha como se describen a continuación:

- Efectos en las condiciones físicas del suelo: Acondicionador, mejora la estructura y agregación de las partículas del suelo, reduce su compactación, incrementa los espacios porosos y mejora la infiltración del agua. De esta manera se puede disminuir la frecuencia de riego y se reduce la erosión.
- Efectos en las condiciones químicas del suelo: Mejora la disponibilidad de nutrientes, solubilizándolos, separando las moléculas que los mantienen fijos, dejando los elementos disgregados en forma simple para facilitar su absorción por el sistema radical.
- Efectos en la microbiología del suelo: Suprime o controla las poblaciones de microorganismos patógenos que se desarrollan en el suelo por competencia.
- Incrementa la biodiversidad microbiana, generando las condiciones necesarias para que los microorganismos benéficos nativos prosperen.

2.3.3.2. Aplicaciones al suelo de microorganismos eficientes

Los diferentes tipos de microorganismos, toman sustancias generadas por otros organismos basando en ello su funcionamiento y desarrollo. Las raíces de las plantas secretan sustancias que son utilizadas por los Microorganismos Eficaces para crecer, sintetizando aminoácidos, ácidos nucleicos, vitaminas, hormonas y otras sustancias bioactivas. Cuando los Microorganismos Eficaces incrementan su población, como una comunidad en el medio en que se encuentran, se incrementa la actividad de los microorganismos naturales, enriqueciendo la microflora, balanceando los ecosistemas microbiales, suprimiendo microorganismos patógenos (FUNDASES, 2014).

Las sustancias bioactivas, como hormonas y enzimas, producidas por las levaduras, promueven la división celular activa. Sus secreciones son sustratos útiles para Microorganismos Eficaces como bacterias ácido lácticas y actinomicetos (FUNDASES, 2014).

El concepto de la inoculación de suelos y plantas con microorganismos benéficos para crear un ambiente microbiano más favorable para el crecimiento de las plantas ha sido motivo de discusión durante décadas por parte de los científicos dedicados a la agricultura. El principio biológico que determina la actuación de este consorcio de bacterias se basa, entre otras propiedades, en su carácter antioxidante.

Además, cuando estos microorganismos entran en contacto con la materia orgánica, secretan sustancias benéficas como vitaminas, ácidos orgánicos y minerales. Así mismo, prosperan por exclusión competitiva, tanto en nichos contaminados como en descomposición, para luego morir cuando las condiciones son limpias, por lo cual no existe riesgo de contaminación secundaria.

Los microorganismos en la agricultura, el EM como inoculante microbiano, restablece el equilibrio microbiológico del suelo, mejorando sus condiciones físico-químicas, incrementa la producción de los cultivos y su protección, además conserva los recursos naturales, generando una agricultura y medio ambiente más sostenible.

La sostenibilidad de los sistemas agrícolas a largo plazo debe fomentar el uso y manejo efectivo de los recursos internos de los agroecosistemas. En este sentido, los biofertilizantes constituyen un componente vital de los sistemas sostenibles, ya que son un medio económicamente atractivo y aceptable de reducir los insumos externos y de mejorar la cantidad y calidad de los recursos internos (Mejía, 1995).

Entre los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura están su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, la descomposición de residuos orgánicos, la desintoxicación con plaguicidas, la supresión de enfermedades en las plantas, el aporte de nutrientes al suelo y la producción de compuestos bioactivos como vitaminas y hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas (Martínez, 2002).

La efectividad en el uso de microorganismos se logra cuando se dan las condiciones óptimas para metabolizar los sustratos, como disponibilidad de agua, oxígeno (dependiendo de si son aerobios obligados o anaerobios facultativos), pH y temperatura, así como la disponibilidad de fuentes energéticas.

2.3.4. Influencia de los Miroorganismos Eficientes en los rendimientos

Peñañiel y Donoso (2004) al evaluar cuatro dosis de ME y un testigo en el cultivo de pepino (*Cucumis sativus*) híbrido Atar Ha-435, llegaron a la conclusión en base al rendimiento en kg.planta^{-1} que no hubo diferencias estadísticas entre estos tratamientos y el testigo, a pesar que el tratamiento 4 logró el mejor peso en la primera cosecha con un peso promedio de 321,1 g.

En lo referente a la variable días a la quinta y séptima cosecha se pudo determinar que el tratamiento 3 con 68,93 días y el tratamiento 2 con 78,33 días respectivamente, obtuvieron una mayor precocidad para estas variables. El tratamiento 1 se colocó en primer lugar con respecto al número de flores del primer racimo floral y número de frutos por racimos con un promedio de 1,13 cada uno. En lo referente a la calidad se pudo observar que el testigo presento más precozmente el ataque de mildiu vellosa.

Fundases (2014) manifiesta que los microorganismos benéficos aumentan la diversidad microbiana del suelo, sintetizan aminoácidos, ácidos nucleicos, vitaminas, hormonas y otras sustancias bioactivas que promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas de modo que se incrementan el rendimiento y la calidad de los cultivos.

El Instituto Jatha-Muhu (2009) menciona en la investigación realizada sobre la influencia de la aplicación foliar de microorganismos eficaces (ME) en el establecimiento de alfalfa, que en el rebrote del primer año de establecimiento del cultivo de alfalfa "W-350" con aplicación de una dosis de 3,5 mL de ME más estiércol se alcanzó una altura mayor a 24 cm, y aquellos con aplicación de una dosis de 2,5 mL de ME sin estiércol han alcanzado una altura promedio de 17 cm durante 10 meses de establecimiento.

Tangoa (2009) investigó el efecto de microorganismos eficaces (ME) en el rendimiento de la cebolla china (*Allium fistulosum* L.) variedad Simba en el Bajo Mayo, San Martín, y obtuvo con dosis de 200 mL.ha⁻¹ en 200 L de agua incrementos en el rendimiento y beneficio económico con 38 381,6 kg.ha⁻¹ y 6,32 de C/B. El mismo autor sostiene que la cantidad de ME que se necesita para aportar al cultivo no es siempre la más elevada, sino la que permite una optimización de las reacciones que este aporta como efectos beneficiosos.

Linares (2014) reporta en su tesis que la dosis de fertilizante orgánico enriquecido con microorganismos eficientes (Ferti ME) con mejores resultados agronómicos y económicos para la producción de la cebolla china (*Allium fistulosum*) fue con una dosis 1,0 t.ha⁻¹ de Ferti ME, obteniéndose un rendimiento de 26 166,7 kg.ha⁻¹. El incremento de cada 0,2 t.ha⁻¹ de Ferti ME desarrollo respuestas lineales positivas sobre las variables diámetro del cuello de la planta, diámetro del bulbo y longitud de la planta.

Pino (2014) evaluó diferentes dosis de fertilizantes con microorganismos benéficos en cultivo de un ecotipo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en la localidad de Lamas, los resultados obtenidos indican que la aplicación de 1 000 kg.ha⁻¹ de Ferti ME (T4) reportó los mayores y mejores promedios con 11 129,1 kg.ha⁻¹ de

rendimiento, 84,7 frutos cosechados por planta, 11,8 g de peso del fruto, 4,57 cm de longitud del fruto, 6,27 cm de diámetro del fruto, 9,32 flores por racimo, 33,64 racimos florales y 204,9 cm de altura de planta, superando estadísticamente a los demás tratamientos estudiados.

El mismo autor reporta que con la aplicación de tratamientos con Microorganismos benéficos a dosis de 1 000 kg.ha⁻¹, 800 kg.ha⁻¹, 600 kg.ha⁻¹ y 400 kg.ha⁻¹, resultados netos positivos y altos, generando ganancias, con valores B/C de 1,36; 0,78; 0,35 y 0,09 y beneficios netos de 9 605,74; 5 186,34; 2 237,27 y 538,16 nuevos soles por campaña respectivamente. El tratamiento testigo absoluto reportó valores B/C negativos y por ende beneficios netos negativos, no generando ganancias económicas.

Chappa y Ávila (2014) evaluaron diferentes dosis de materia orgánica con microorganismos benéficos en el cultivo de rábano (*Raphanus sativus* L.), en la provincial de Lamas. Los resultados indican que el tratamiento de Ferti ME (0,4 t.ha⁻¹), obtuvo el mayor rendimiento promedio con 18 399,98 kg.ha⁻¹ y un beneficio/ costo de 1,58. Los mismos autores concluyen que el incremento de las dosis Microorganismos benéficos, repercutieron directamente en el incremento del rendimiento en kg.ha⁻¹ y por ende en el incremento de la rentabilidad del cultivo de rábano.

La investigación realizada por Isla (2005) en el sector de "La Unión" distrito de La Banda de Shilcayo tuvo como objetivo evaluar los efectos de cuatro concentraciones de Microorganismos Eficientes, en la población de homópteros en naranjo. Los tratamientos empleados fueron cuatro: (T1) 0,50% de ME, (T2) 1,00% de ME, (T3) 1,50% de ME y (T4) 2,00% de ME, además de un testigo absoluto (T0).

Se observó que el mayor efecto "biocida" del ME en cítricos se fue en las hojas y ramas, donde se tuvo una correlación negativa entre la incidencia poblacional y la concentración de ME. El tratamiento con concentración de 1,5% de ME ejerció excelente control en hojas y ramas con 1,00 grados promedio de infestación para ambos casos. No se observó un efecto claro de los tratamientos en frutos, debido

posiblemente a que se tuvo una plantación heterogénea, con variedades de naranjo Valencia, Washington navel, mandarino y naranjo común, lo que originó una variación en el proceso de fructificación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización de los experimentos y material vegetal

El trabajo se desarrolló en la Empresa Agroindustrial 'Victoria de Girón', localizada entre los 22°30' - 22°50' de latitud norte y los 81°35' - 81°51' de longitud oeste a una altitud de 13-25m.s.n.m., en el municipio Jagüey Grande, provincia de Matanzas, en la región occidental de Cuba. El clima de la localidad se caracteriza según Aranguren (2009) por una temperatura media mensual de 14,4°C en el mes más frío y de 33,4°C en el mes más cálido, con el período lluvioso entre mayo y octubre, con precipitación media anual de 1 494 mm, humedad relativa promedio superior al 80% y 7,6 horas diarias de sol (Aranguren, 2009).

Se utilizaron plantaciones de la Unidad Empresarial de Base No 1, correspondientes al lote T-4, de naranjo 'Olinda Valencia' [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] de cinco años, injertados sobre el patrón 'citrange Çarrizo' y plantados a distancia de 7 x 2,5 m, en suelos profundos sobre roca caliza, que se clasifican como Ferralítico Rojo y catalogados como Ferralsol Rhodic y Nitisol Rhodic en correlación con el "World Reference Base" (Hernández *et al.*, 2004).

3.2. Manejo agronómico general de las plantaciones

Plantaciones con un manejo agronómico según esquema tecnológico de la empresa de cítricos "Victoria de Girón", con sistema de riego localizado (goteros RAM auto compensados de 3,5 L por hora, espaciados a 0,75 m, para una entrega al año de entre 60,3 y 83,4 L por planta por día. Durante el período se realizaron podas de mantenimiento, control de arvenses y tratamientos fitosanitarios para el manejo de plagas y enfermedades según las señalizaciones que en su momento emitió la Estación Territorial de Protección de Plantas.

3.3. Diseño experimental

Atendiendo al deterioro presentado en las plantaciones producto de la presencia de la enfermedad HLB y teniendo en cuenta que el problema fundamental detectado estaba relacionado con el amarillamiento generalizado de las plantaciones, se diseña

un ensayo de bloques al azar que consta de cuatro tratamientos, cada uno a su vez con cuatro réplicas de 10 plantas, para un total de 40 por tratamiento.

Tratamientos:

I: Testigo

II: 1L de ME por mochila (0,06%)

III: 3L de ME por mochila (0,18%)

IV: 5L de ME por mochila (0,31%)

Se empleó para la aplicación una mochila Matabi de 16 L, y las aplicaciones se realizaron a intervalos de 15 días hasta el momento de la cosecha (febrero-noviembre).

3.4. Efecto de las aplicaciones de ME en el estado nutricional de las plantas

Para determinar el efecto de los ME en el estado nutricional de las plantas en septiembre de cada tratamiento se tomaron 80 hojas de ramas fructíferas, cuatro por cada planta representando los cuatro puntos cardinales. Procesadas en el laboratorio de manejo de las plantaciones de la Unidad Científico Tecnológica de Base (UCTB) Jagüey Grande y enviadas al Laboratorio Provincial de Suelos y Fertilizantes para los análisis.

El análisis fue realizado por el método de digestión húmeda con ácido sulfúrico (Bataglia *et al.*, 1993). Se determinaron los niveles foliares de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, Para la interpretación de los resultados de los análisis foliares (Anexo 1) se utilizaron las recomendaciones establecidas por MINAGRI-UNECIT (1990).

3.5. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la floración y el cuaje

Se determinó el efecto de los ME en la floración y el cuaje. Para ello se marcó una rama por planta al azar en las 40 plantas de cada tratamiento en las que se evaluó la floración por conteo de flores abiertas y con posterioridad número de frutos cuajados por rama a una distancia de 50 cm de la punta al centro del árbol.

3.6. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la producción

Para estimar la producción se realizó el conteo de los frutos por planta en cada tratamiento y se utilizó el peso promedio por fruto (g) obtenido en los análisis de calidad de cada tratamiento y se estimó la producción en toneladas.

3.7. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la calidad de los frutos

Para evaluar la calidad de los frutos en el momento de la cosecha se realizó un muestro al azar de 15 frutos por replica, para un total de 60 por tratamiento, los que se analizaron en el laboratorio de la Unidad de Beneficio de la Empresa de Cítricos "Victoria de Girón". Se determinaron las variables físicas de calidad: masa de los frutos (g), diámetro y altura del fruto (mm) y las variables de calidad interna: contenido de jugo (%), sólidos solubles totales (°Brix), acidez titulable (%) e índice de madurez (SST/acidez), según los métodos de ensayo (NC 77-11:1981; NC-ISO IDT 2173:2001; NC-ISO IDT 750:2001).

3.8. Análisis económico de las aplicaciones de ME

Para el análisis económico de las aplicaciones de ME se tuvieron en cuenta los indicadores económicos recomendados por Guzón *et al.* (2011):

- Producción por planta: Se utilizaron los datos del conteo de frutos por planta y su masa obtenidos en cada tratamiento.
- Rendimiento ($t \cdot ha^{-1}$): Se utilizó un número de plantas/ha de 571 para una distancia de plantación de 7x2,5 m. Se multiplicó la producción por el total de plantas/ha.
- Costo producción (\$): Se utilizaron los costos de operaciones de las labores fitotécnicas realizadas para 1ha al cultivo de naranja del área donde se realizaron las aplicaciones. Se sumó a este valor el costo de las aplicaciones del ME realizadas en cada tratamiento teniendo en cuenta que 1L de ME cuesta 1CUP.

- Ingresos por venta de la producción (\$): Se utilizó el precio fijado para la venta de los frutos de naranjas, correspondiente a 1 300 CUP.t⁻¹ en función de la producción obtenida por tratamiento.
- Ganancia o utilidad bruta (\$): Relación entre los costos y los ingresos. Según la expresión (Ingresos-costos).

Para el cálculo de estos indicadores, se utilizó como información básica:

- Precio de venta de una tonelada de naranja.....\$ 1 300 CUP.
- Precio de un litro de ME.....\$ 1,00 CUP.
- Costo base de producción por ha.....\$ 4 848,64 CUP

3.9. Análisis estadístico y programa empleado

Los datos obtenidos se transformaron a \sqrt{x} cuando fue necesario su normalización y se procesaron mediante análisis de varianza de clasificación simple. Las diferencias entre los tratamientos se establecieron mediante la prueba de Tuckey para un nivel de significación del 5%. Se empleó el paquete estadístico STATISTIC, Versión 6.0.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto de las aplicaciones de ME en el estado nutricional de las plantas

Al analizar las muestras foliares tomadas en cada tratamiento para evaluar el contenido de nutrientes en hojas se obtuvieron los siguientes resultados (tabla 1). Se pudo observar que en todos los tratamientos los niveles foliares de nitrógeno superan el 2,2% incluso en el testigo, valores que se encuentran en rango de satisfactorios según el Instructivo Técnico para el Cultivo y Beneficio de los Cítricos (MINAGRI-UNECIT, 1990).

Tabla 1. Análisis foliares de plantas de los diferentes tratamientos con ME.

Tratamientos	Nitrógeno (N)	Fósforo (P)	Potasio (K)
	En % de materia seca		
Testigo (tratamiento empresa)	2,703	0,152	0,75
1L de ME por mochila (0,06%)	2,324	0,159	0,73
3L de ME por mochila (0,18%)	2,522	0,130	1,00
5L de ME por mochila (0,31%)	2,219	0,152	1,03

En cuanto al fósforo se comprobó que el nivel de este elemento es satisfactorio en todos los tratamientos, dado que los valores deben encontrarse entre 0,13-0,17%. La importancia de mantener los niveles de fertilidad en media a alta garantiza menor pérdida de productividad y menores costos, así como menor riesgo de pérdida. Es necesario saber que para el manejo nutricional no existe una receta, se debe conocer la demanda nutricional del cultivo, la disponibilidad de nutrientes en el suelo y eficiencias de fertilizantes (Quaggio *et al.*, 2015).

El nitrógeno tiene un fuerte efecto sobre el fósforo, el fósforo foliar con frecuencia depende más del nitrógeno foliar que del suministro y la disponibilidad del fósforo. Es virtualmente imposible tener un alto contenido de ambos elementos en la misma hoja (Erner *et al.*, 2000). Estos resultados no muestran correspondencia con los obtenidos atendiendo a los niveles satisfactorios de fósforo presentes en todos los tratamientos.

En este sentido Campo *et al.* (2014) encontraron que los análisis de suelos revelaron que la aplicación de microorganismos influyó en algunas propiedades, como incremento de la materia orgánica, el pH y el contenido de nitrógeno y potasio.

El potasio en cambio se encontró en niveles bajos en los tratamientos I y II, si tenemos en cuenta que los tenores satisfactorios para este elemento deben ser superiores a 1%. Pero se comprobó una relación directa entre los tenores de potasio foliar y las dosis de ME aplicada.

Como se muestra en la figura 1, al valorar la influencia de la aplicación de ME en el estado de la plantación se pudo apreciar una correspondencia entre el vigor y estado general de las plantas y las dosis de aplicadas.



(A) antes de las aplicaciones de ME (febrero)



(B) después de las aplicaciones de ME (junio)

Figura 1. Estado de la plantación de naranjo 'Valencia' antes y después de las aplicaciones de ME.

De forma general estas observaciones indican que las aplicaciones de ME en este trabajo, no influyeron en el aumento de los niveles foliares de los elementos nutricionales de las plantas con HLB, y su posible acción puede estar dada a su efecto como regulador del crecimiento sobre procesos fisiológicos, como la fotosíntesis y su influencia en el color de las hojas, la floración, fructificación y el cuajado de los frutos.

4.2. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la floración y el cuaje

Al analizar los resultados (figura 2) de la influencia de los microorganismos eficientes en la cantidad de flores por rama, se pudo comprobar que existieron diferencias significativas entre los tratamientos, efectos similares se encontró en el I y II sin diferencias entre ellos pero si con respecto a los tratamientos III y IV sin diferencias entre ellos.

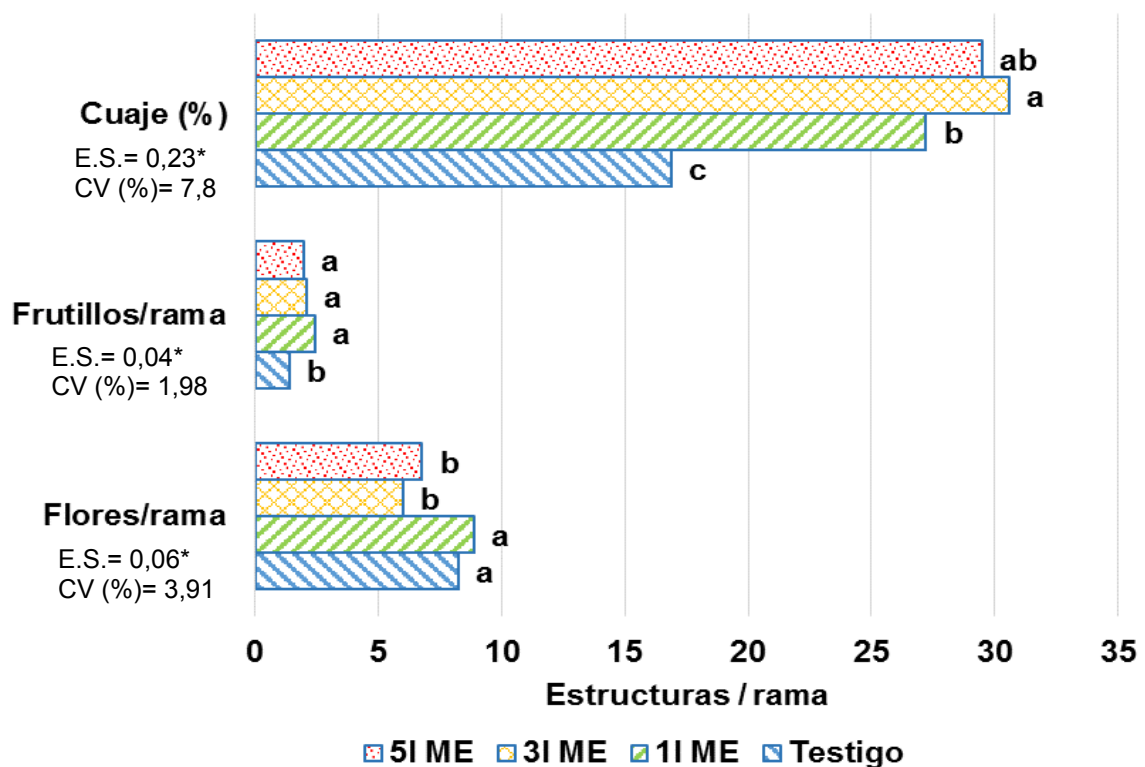


Figura 2. Influencia de las aplicaciones de ME en la floración y el cuaje en naranjo Valencia de Jagüey Grande.

En este sentido IHOAgro (2015) encontró una respuesta positiva en la floración al emplear los bioestimulantes IHO-BIO y IHO-MINERAL en plantaciones de cítricos con HLB en Indian River, Florida.

En cuanto a la cantidad de frutillos por rama se pudo apreciar que existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en los que se aplicó microorganismos eficientes con relación al testigo, que presentó menos frutillos por rama. En el cuajado de los frutos se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en los que se aplicó microorganismos eficientes y el testigo, con los mejores resultados en cuanto al amarre de los frutos cuando se les aplicó ME a una concentración de 0,18%.

En este sentido Recharte (2015) encontró que con la utilización de la dosis media de las tres utilizadas (21 mL de ME), se logran los mejores resultados en los parámetros agronómicos de las plantas de tomate y se logró un rendimiento de 5 440,90 kilogramos por hectárea, en comparación con el testigo que fue de 3 198,50 kilogramos por hectárea.

En el cultivo de la Caihua el mayor número de frutos cosechados se atribuyó al efecto de la interacción de todo este conjunto de microorganismos (levaduras, bacterias fotosintéticas, bacterias ácido lácticas, actinomicetes) que facilitó mayor vigorización de la planta, mayor viabilidad en las condiciones fisiológicas y metabólicas de la planta, mayor incremento y producción de la tasa fotosintética, trayendo como consecuencia mayor crecimiento y desarrollo de las plantas y por consiguiente mayor número de frutos según Ríos (2017).

En este sentido Chávez (2012) al evaluar cinco dosis de microorganismos eficientes en el cultivo de la lechuga encontró, que todos los tratamientos estudiados en base a la aplicación de diferentes dosis de microorganismos eficientes, interaccionaron en una forma sinérgica y eficiente y demostraron su contribución en mejorar la calidad del suelo, en mejorar el crecimiento estructural del cultivo y fueron determinantes para incrementar los procesos fotosintéticos y la producción del cultivo de la variedad 'Great Lakes 659'.

La necesidad de desarrollar estudios que faciliten un mejoramiento del estado clorótico de las plantaciones y favorezcan el mantenimiento de su vida útil, son fundamentales, es por ello que el empleo productos novedosos, así como adecuar sus dosis, es una necesidad de la citricultura contemporánea, atendiendo a que son repuestas que en gran medida están en correspondencia con la especie y el estado fisiológico de la planta (González *et al.*, 2015).

Por otra parte Linares (2015) encontró en un ensayo en el que se evaluaron diferentes dosis de fertilizante orgánico enriquecido con microorganismos benéficos (FERTI ME) los mejores resultados agronómicos y económicos en la producción de cebolla china fue con la mayor dosis de las cuatro evaluadas ($1,0 \text{ t.ha}^{-1}$ de Ferti ME).

González *et al.* (2015) al emplear un bioestimulante de origen bacteriano a partir de *Burkholderia cepacia* (Palleroni y Holme), durante las fases de crecimiento y desarrollo de plántulas de cafeto de *Coffea canephora* P. cv. 'Robusta' obtuvieron resultados favorables para los indicadores número de pares de hojas, altura de la planta y masa seca.

De igual modo, han sido informadas respuestas positivas en el rendimiento de diferentes cultivos como arroz (*Oryza sativa*) y maíz (*Zea mays*) al emplear bioproductos obtenidos a partir de bacterias estimulantes del crecimiento vegetal (Pedraza *et al.*, 2010). Terry *et al.* (2005) encontraron que plantas de arroz tratadas con ME a 7 L.ha^{-1} registraron los mejores resultados en relación a las variables morfológicas evaluadas y en el rendimiento ($7,6 \text{ t.ha}^{-1}$).

4.3. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la producción

Los resultados del efecto de las aplicaciones de microorganismos eficientes en la fructificación (figura 3) mostraron que en la concentración de 0,18% se obtuvo mayor cantidad de frutos sin diferencias con la dosis de 0,31%, pero si con el resto de los tratamientos. Los resultados indican que el empleo de ME a dosis mayores a 0,18% comienzan a reducir su efecto favorable en los indicadores del rendimiento.

Goigochea (2014) evaluó el efecto de la aplicación de cuatro dosis de fertilizante orgánico enriquecido con microorganismos eficientes (Ferti ME) en el rendimiento de grano seco del frijol trepador (*Phaseolus vulgaris*) variedad Huasca Poroto en el distrito de Lamas. Los resultados indican que con la aplicación de 0,8 t.ha⁻¹ de Ferti ME, se incrementó el número de vainas por planta y número de semilla por vaina.

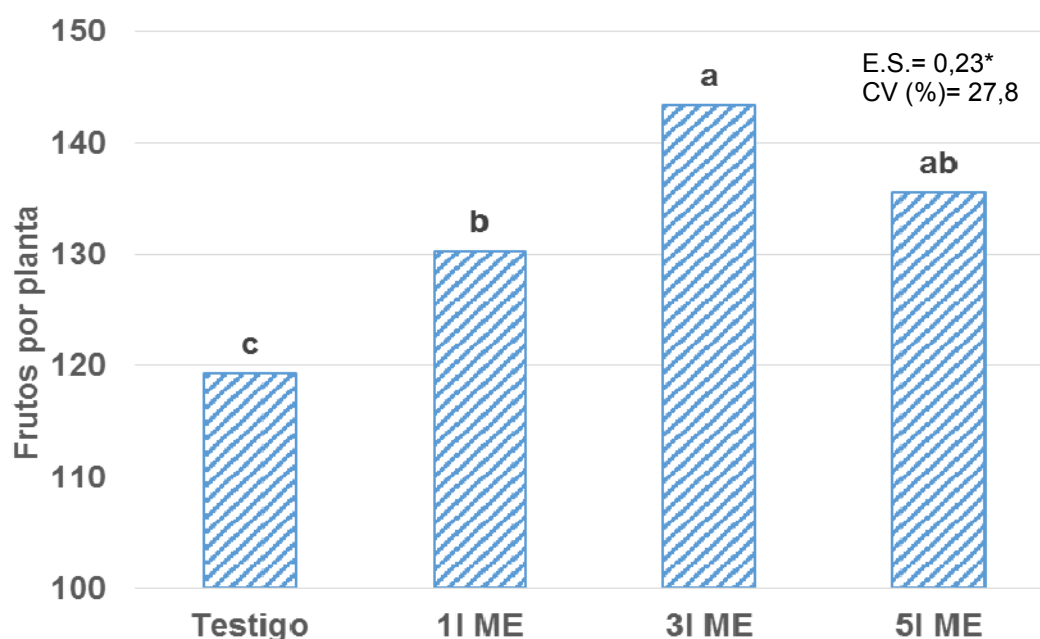


Figura 3. Influencia de los ME en la fructificación del naranjo Valencia.

Chappa y Ávila (2014) señalan que el incremento de las dosis de Microorganismos benéficos, repercutieron directamente en el incremento del rendimiento en kg.ha⁻¹ y por ende en el incremento de la rentabilidad del cultivo de rábano. Terry *et al.* (2005) encontraron que la inoculación artificial de la rizobacteria *Azospirillum* en el cultivo del tomate causó un efecto en positivo sobre el estado nutricional de las plantas, con un rendimiento agrícola superior a un 11% con respecto a las plantas testigo.

Resultados similares también obtuvo Goigochea (2014) quién evaluó diferentes dosis de Ferti ME en el cultivo de frijol, variedad Huasca Poroto, obteniendo con dosis de 1,0 y 0,8 t.ha⁻¹ de Ferti ME. Resultados similares lograron Linares (2014) en el cultivo de cebolla china y Pino (2014) en el cultivo de tomate, aplicando 1 000 kg.ha⁻¹ de

Ferti ME, con tendencia a incrementar los rendimientos. Chappa y Ávila (2014) reportan que aplicando mayores dosis de Ferti ME en el cultivo de rábano ($0,4 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$), se incrementan los rendimientos del cultivo.

4.4. Influencia de las aplicaciones foliares de ME en la calidad de los frutos

Los resultados de los análisis de calidad de los frutos realizados en la segunda década de diciembre (tabla 2), mostraron que todos los tratamientos presentaban los índices mínimos considerados como adecuados para la cosecha de las naranjas con destino al mercado de frutos frescos, según las normas cubanas establecidas (NC-77-97, 1993; NC 223, 2002).

En cuanto a la masa de los frutos el mayor valor se encontró en el tratamiento II con 214,7 gramos, sin diferencias estadísticas significativas con los tratamientos en los que se aplicó ME, pero si estos con el testigo que fue el de menor masa con una media de 193,5 gramos.

Tabla 2. Análisis de calidad de los frutos de los diferentes tratamientos con ME.

Tratamientos	Masa (g)	Diámetro (mm)	Altura (mm)	Jugo (%)	Brix	Acidez (%)	Índice madurez
Testigo	193,5 b	69,8 b	71,0 b	50,8 b	9,8 b	0,79 bc	12,5 ab
1L ME (0,06%)	214,7 a	72,8 a	74,0 a	50,7 b	9,6 c	0,74 c	13,1 a
3L ME (0,18%)	205,0 a	71,9 ab	72,6 ab	54,8 a	9,7bc	0,87 ab	11,3 b
5L ME (0,31%)	213,0 a	72,4 ab	73,4 a	48,0 b	10,0 a	0,89 ab	11,3 b
ES	2,15	0,32	0,28	0,44	0,04	0,01	0,21
CV (%)	6,90	2,85	2,52	5,55	2,86	12,46	11,41

Los resultados obtenidos difieren de los alcanzados por Ríos (2017) en el cultivo de la Caihua (*Cyclanthera pedata*), atendiendo a que encontró una respuesta lineal positiva por tratamiento con un alto nivel de correlación (97,8%) entre la variable dosis de fertilizante FERTI ME) y la variable peso del fruto. Los resultados en naranja 'Olinda Valencia' mostraron aunque sin diferencias entre los tratamientos en que se aplicaron los ME, que masa del fruto fue mayor que en el testigo.

En cuanto al diámetro de los frutos, que junto a la altura son los parámetros físicos que definen su tamaño y forma, se pudo comprobar que los frutos en el testigo fueron los de menor tamaño, sin diferencias significativas con relación al tratamiento con ME a 0,31%. Aranguren (2009) cita a diversos autores quienes plantean que el tamaño final de los frutos se relaciona de forma inversa con la intensidad de la floración y el cuajado.

La masa, diámetro y contenido de jugo de los frutos, son variables de calidad que se ven afectadas de forma significativa por la enfermedad HLB. En un estudio realizado por Bassanezi *et al.* (2009) y Yulu (2014) en las condiciones de Brasil, donde compara la calidad de los frutos de cuatro cultivares de naranjo 'Valencia', 'Hamlin', 'Pera' y 'Westin' procedentes de ramas con síntomas encontraron que los frutos fueron más pequeños y de menor masa.

Hernández (2018) cita a Graham (2017) quien informa la deformación de los frutos afectados por HLB, y a Robles *et al.* (2013) que encontraron frutos de menor tamaño en ramas sintomáticas de la lima 'mexicana', pero no detectaron frutos deformes, con maduración invertida o incremento del número de semillas abortadas.

En cuanto al contenido de jugo los frutos del tratamiento con ME al 0,18% alcanzaron el mayor porcentaje, mientras que entre el resto de los tratamientos y las plantas sin aplicaciones (testigos) no se encontraron diferencias significativas.

Bassanezi *et al.* (2009) y Yulu (2014) en diferentes cultivares de naranjo encontraron una reducción significativa del contenido de jugo y sólidos ligeramente superiores en los frutos enfermos con respecto a la fruta normal, este autor encontró en otros cultivares de naranjo un efecto contrario al observado en 'Valencia'.

El tratamiento con ME a 0,31% indujo un mayor Brix en los frutos, no obstante, las diferencias no son tan marcadas como las encontradas en otras variables de calidad y crecimiento, sin embargo, en todos los tratamientos supera el mínimo de ocho establecido para la cosecha y comercialización de los frutos frescos. Con relación al Brix se ha reportado se reduce de forma significativa en plantas infestadas con HLB,

en este sentido en frutos de plantas sintomáticas de los cultivares de naranja 'Hamlin' y 'Pera' fue menor respecto al Brix de frutas provenientes de plantas sanas (Bassanezi *et al.*, 2009).

La acidez de los frutos en todas las variantes resultó inferior al 1,0% y superior al 0,5% que es el rango establecido como criterio de calidad para la cosecha, sin embargo, el tratamiento con ME a 0,06% y el testigo mostraron una acidez estadísticamente inferior con respecto al resto de las variantes. Lo que indica su inicio más temprano de la cosecha en el mes de noviembre, con respecto al resto de los tratamientos con aplicación de ME.

El índice de madurez para la comercialización de frutos frescos debe ser mayor a ocho y en todas las variantes se supera este indicador, y se destaca el tratamiento a 0,06% y el testigo con un valor de 13,1 y 12,5 fueron superiores al resto de los tratamientos, lo que representa una madurez más avanzada de los frutos.

Según Hernández (2018) las observaciones realizadas en la calidad de los frutos bajo la influencia del HLB en Jagüey Grande, Cuba, se corresponden con los resultados de los análisis realizados en Brasil y La Florida, donde se destaca que las afectaciones más importantes a la calidad por el HLB son en la masa y tamaño de los frutos. De forma general los resultados obtenidos indican que la aplicación de Microorganismos Eficientes en árboles de naranjo 'Valencia' en Jagüey Grande en concentración de 0,18% se puede utilizar como una alternativa sostenible, económica y ecológica.

4.5. Análisis económico de las aplicaciones de ME

En la tabla 3 se muestran los resultados del análisis de los indicadores económicos para la comercialización de la producción de una hectárea de naranja en función de los resultados de los tratamientos con ME. Se observa que el rendimiento se incrementó con el aumento de la dosis de ME aplicada con respecto al testigo (13,2 a 16,8 t.ha⁻¹).

Tabla 3. Análisis económico de los resultados de las aplicaciones de ME en naranjo Valencia de Jagüey Grande.

Indicadores	Testigo	1 L ME	3 L ME	5 L ME
Rendimiento (t.ha ⁻¹)	13,2	16,0	16,8	16,5
Precio de venta/t (\$)	1,300	1,300	1,300	1,300
Ingresos/ha (\$)	17,136	20,766	21,821	21,424
Costo operaciones/ha (\$)	4,848.64	4,904.64	5,016.64	5,128.64
Ganancia (\$)	12,287.02	15,861.51	16,804.75	16,295.25
Relación Costo/beneficio	0,39	0,31	0,30	0,31

Las mayores ingresos y ganancias se alcanzaron con los tratamientos en que se aplicó el ME a dosis de 3 y 5 L. Aunque estos tratamientos aumentaron los costos de operaciones con su aplicación, los bajos precios del producto no representan un valor importante en las ganancias alcanzadas.

Guzón *et al.* (2011) plantean que la valoración de la rentabilidad es un paso medular que determina si se logran cubrir los costos y obtener determinada utilidad con los ingresos que se generan. El análisis de la relación costo-beneficio muestra que los tratamientos con ME oscilaron entre 0,30 y 0,31 centavos por peso producido, en comparación con el testigo que presentó los mayores valores en esta relación con un valor de 0,39 centavos por peso, lo que está determinado al menor rendimiento alcanzado en este tratamiento.

Con la estimación de este indicador económico se corroboró que a partir de la obtención de una mayor cantidad de frutos por plantas dado al mayor cuajado de los frutos con la aplicación de ME a razón de 3 L por planta se generan ganancias que hacen más rentable el cultivo.

5. CONCLUSIONES

- Las aplicaciones foliares de Microorganismos Eficientes en plantas de naranjo 'Olinda Valencia' a dosis de 3L (0,18%) y 5L (0,31%) no influyeron de forma importante en la floración, pero si en el cuajado de los frutos.
- La mayor producción expresada en número de frutos en la cosecha se logró en el tratamiento de 3L (0,18%), con mayor contenido de jugo y acidez que en el resto de los tratamientos.
- En los tratamientos con Microorganismos Eficientes, a dosis de 3L y 5L como complemento a la tecnología en naranjo 'Olinda Valencia', se lograron los mayores ingresos y ganancias.
- La aplicación de microorganismos eficientes en plantas de naranjo 'Olinda Valencia', a una concentración 3L ME (0,18%) mostró los mejores resultados, en número de frutos por planta.

6. RECOMENDACION

Extender por un mínimo de tres años las pruebas de aplicaciones de ME en naranjo Valencia con HLB en Jagüey Grande, por ser un cultivo perenne sujeto a la influencia de diversos factores que aumentan la variabilidad.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Achor, D. S.; Etxeberria, E.; Wang, N.; Folimonova, S. Y.; Chung, K. R. and Albrigo, L. G. 2010. Sequence of anatomical symptom observations in citrus affected with huanglongbing disease. *J.Plant Pathol.* 9: 56-64.
- Adesemoye, A. y Kloepper, J. 2009. Plant-microbe sinteractions in enhanced fertilizer use efficiency. *Applied microbiology and biotechnology.* p. 1-12.
- Adriano, M.; Jarquín, R.; Ramos, C.; Salvador, M. y Vargas, C. 2011. Biofertilizer of organic coffee in stage of seedlings in Chiapas, México. *Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 2(3) : 53-62.
- Anaya, B.; Deere, C. A.; Fernandez, E.; García, A.; González, G.; Muiño, B. L.; Nova, A. y Royce, F. S. 2016. Conviviendo con el HLB: la diversificación de la industria cítrica en Cuba. Working Paper No 4, July 2016. Cuba-US Agricultural Research Working Paper Series. Center for Latin American Studies and Institute for Food & Agricultural Sciences, University of Florida. 27p.
- Angulo, F. R. 2009. Evaluación de cuatro bioestimulantes comerciales en el desarrollo de plantas injertadas de cacao (*Theobroma cacao* L.) cultivar nacional. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo Ecuador.
- APNAN. 2003. Asia Pacific Natural Agriculture Network. Manual de Aplicación [en línea]. Disponible en: www.apnam.com. [Consulta: octubre, 18 2018].
- APROLAP. 2007. Manual para la producción de compost con microorganismos eficaces. [en línea]. Disponible en: http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/basedatos/manualpara_elaboracion_de_compost.pdf. [Consulta: abril, 8 2018].
- Aranguren, M. 2009. Pronósticos de madurez y otras especificaciones de calidad para el ordenamiento de la cosecha en los cítricos de Jagüey Grande. Ciudad Habana. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. Ministerio de la Agricultura.

- Baset, M.; Shamssudin, Z.; Wahab, Z. y Marcia, M. 2010. Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth an nitrogen incorporation of tissue-cultured Musa plantlets under nitrogen-free hydroponics conditions. *Australian Journal of Crop Science*. 4 (2) : 85-90.
- Bassanezi, R. B.; Montesino, L. H. and Sanches, E. 2009. Effects of huanglongbing on fruit quality of sweet orange cultivars in Brazil. *Eur J Plant Pathol*. 125 : 565–572.
- Beattie, G. A.; Holford, P.; Maberley, D. J.; Haigh, A. M.; Bayer, R. and Broadbent, P. 2006. Aspects and insights of Australia - Asia collaborative research on Huanglongbing. Pages 47 - 64 In: Proc. of the Intl. Workshop for the Prevention of Citrus Greening Disease in Severely Infected Areas. Intl. Res. Div., Agric. Forestry Fisheries Res. Counc. Secretariat, Ministry of Agric., Forestry and Fisheries, Tokyo, Japan.
- Biosca, A. 2001. ¿Qué son microorganismos eficientes? [en línea]. Disponible en: <http://es.answers.yahoo.com/question/index?qid=20080731132826aa6mgbr>. [Consulta: noviembre, 13 2018].
- Borroto, N. C. y Borroto, A. 1991. Citricultura Tropical. En: Nutrición. Tomo 1, La Habana, Cuba. p. 181-218.
- Bové, J. M. 2008. Citrus Diseases, Huanglongbing, Text and Image [en línea]. Disponible en: Gallery.<http://www.ivia.es/iocv> [Consulta: noviembre, 13 2018].
- Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: A destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *J. Plant Pathology* 88 : 7-37.
- Brock, D. T. y Madigan, M. T. 1993. Microbiología. 6^{ta}. Ed. Naulcalpan de Juarez: Prentice Hall. Hispanoamericana.
- Bustamante, C. A.; Rodríguez, M. I. y Pérez, A. 2010. Respuesta de clones de *Coffea canephora* a la aplicación de Azotobacter en fase de vivero. *Café y Cacao*. 9 (1) : 8-13.

- Campo, M. A.; Acosta, S. R.; Morales, V. S. y Prado, F. A. 2014. Evaluación de microorganismos de Montaña (mm) en la producción de Acelga en la meseta de Popayán-Colombia. *Bio. Agro.* 12 (1) : 79-87.
- Capoor, S. P. 1963. Decline of citrus trees in India. *Bull. Nat. Inst. Sci.* 24 : 48 - 64.
- Capoor, S. P.; Rao, D. G. and Viswanath, S. M. 1967. *Diaphorina citri* Kuway, a vector of the greening disease of citrus in India. *Ind. J. Agric. Sci.* 37 : 572 - 576.
- Carrera D. E. y Canacuán, A. Z. 2011. Efecto de tres bioestimulantes orgánicos y un químico en dos variedades de frijol arbustivo, Cargabello y Calima rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) en coatacachi-imbabura [en línea]. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec.pdf>. [Consulta: mayo, 11 2018].
- Chappa, C. E. y Avila, L. 2014. Dosis materia orgánica con microorganismo benéficos con microorganismos de (FERTI ME) en el cultivo de rabanito (*Raphanus sativus* L.), en la Provincia de Lamas. Tesis de pregrado Facultad de Ciencias Agrarias. UNSM-Tarapoto.
- Chávez, R. G. 2012. Evaluación de la aplicación de cinco dosis de microorganismos eficientes, para el control de *pythium* sp. y *fusarium* sp. en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*, L) variedad Great Lakes 659 en Lamas – San Martín. Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, Perú.
- Chen, J. G.; Cheng, S. H.; Cao, W. and Zhou, X. 2009. Involvement of endogenous plant hormone in the effect of mixes nitrogen source on growth and till ring of wheat. *Informações Agronômicas.* 81 : 87-97.
- Chiriboga, A. 2011. Efectos de aplicación de tres bioestimulantes foliares sobre el rendimiento de la cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.) en el cantón Montufar, provincia del Carchi [en línea]. Disponible en: <http://repositorio.utb.edu.ec:8080/handle/123456789/105>. [Consulta: mayo, 11 2018].

- Colleta - Filho, H. D.; Targon, M. L.; Takita, M. A.; De Negri, J. D.; Amaral, A. M.; Müller, G. W.; Pompeu, J.; Carvalho, S. A. and Machado, M. A. 2004. Detecção do agente causal do greening do citros (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) no estado de São Paulo. Summa Phytopathol. 30 : 510.
- Compant, E.; Climent, C. y Sessitsch, A. 2010. Plant growth promoting bacteria in the rhizo and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. Soil Biology and Biochemistry. 42 (5) : 669-678.
- Coutinho, F. M. 2011. Caderno dos Microrganismos Eficientes (EM). Instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM. 2a Edição. Programa de Extensão “Divulgação das Plantas Medicinais, da Homeopatia e da Produção de Alimentos Orgânicos”. Universidad e Federal de Vicosá.
- Cueto, R. 2009. Hacia una nueva citricultura en Cuba. Jornada de la Citricultura. Conferencia. Empresa de Cítricos Ceiba
- Del Amor, F. 2001. Fertirrigación óptima en cítricos [en línea]. Disponible en: <http://par.cebascsic.es/publi/160500.html>. [Consulta: noviembre, 21 2018].
- Dibut Álvarez, B.; Hernández, G.; López, M.; Martínez, A.; Bach, T.; Rivera, R.; Hernández, A.; Fernández, F.; Medina, N. y Herrera, R. 2011. Surgimiento y desarrollo en Cuba de la red de producción de biofertilizantes y bioestimuladores. Agrotecnia de Cuba. 35 (1) : 61-72
- Duan, Y. P.; Zhou, J. I.; Hall, D. G.; Li, W. B.; Doddapaneni, H.; Lin, H.; Liu, L.; Vahling, C. M.; Gabriel, D. W.; Williams, K. P.; Dickerman, A. and Gottwald, T. 2009. Complete genome sequence of Citrus huanglongbing bacterium, *Candidatus Liberibacter asiaticus* obtained through metagenomics. Molecular Plant Microbe Interactions 22 : 1011-1120.
- Earth. 2008. Escuela Agrícola de la región del Trópico –(Tecnología EM. EMRO (Effective Microorganism Research Organization Inc.) Limón. Costa Rica. 16 p.
- Erner, Y.; Cohen, A. y Magen, H. 2000. Fertilizando para altos rendimientos cítricos. Instituto internacional de la Potasa. Boletín. 4 : 17-37.

- FAO. 2003a. Proyecciones de la producción y consumos mundiales de cítricos en el año 2010. Comité de problemas de productos básicos. 13ª Reunión Grupo Intergubernamental sobre Frutos Cítricos. Enero, CCP: CI 03/2. 9 p.
- FAO. 2003b. Industria Citrícola de Cuba: Crecimiento y perspectivas de mercado. Comité de Problemas de Productos Básicos. 13ª Reunión Grupo Intergubernamental sobre Frutos Cítricos. Mayo, CCP: CI 03/9. 9 p.
- FAOSTAT. 2011. Datos provisionales 2011 de producción [en línea]. Disponible en: <faostat.fao.org/faostat>. [Consulta: septiembre, 16 2018].
- Ferragut, F. N. y Ochoa, R. 2012. New mite invasions in citrus in the early years of the 21st century. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 59 (1/2) : 145-164.
- Fraser, L. R.; Singh, D.; Capoor, S. P. and Nariani, T. K. 1966. Greening virus, the likely cause of citrus dieback in India. FAO Plant Prot. Bull. 14 : 127 - 130.
- FUMEX. 2012. Bioestimulantes [en línea]. Disponible en: <http://www.fumex.cl/ecobioestimulantes.html>. [Consulta: septiembre, 16 2018].
- Fundases. 2014. EMRO Microorganismos Eficientes [en línea]. Disponible en: <http://www.fundases.org>. [Consulta: junio, 7 2018].
- García, R. G. 2005. Efectos de un multiextracto de algas y cianobacterias sobre la producción y calidad de tomate ecológico e integrado [en línea]. Disponible en: <http://www.horticom.com/pd/imagenes/59/039/59039.html>. [Consulta: septiembre, 16 2018].
- Garnier, M. y Bove, J. M. 1983. Transmission of the organism associated with Citrus greening disease from sweet orange to periwinkle by dodder. Phytopathology 73 : 1358-1363.
- Garnier, M.; Jagoueix-Eveillard, S.; Cronje, P.; Le Reoux, H. and Bové, J. M. 2000. Genomic characterization of a liberibacter present in an ornamental rutaceous tree, *Calodendrum capense*, in Western Cape Province of South Africa.

- Proposal of *Candidatus Liberibacter africanus* subsp. *capensis*. Int. J. Syst. Bacteriol. 50 : 2119-2125.
- Godes, A. 2007. Perspectivas de los inoculantes fúngicos en Argentina. En: Izaguirre-Mayoral, M. L., C. Labandera y J. Sanjuán (eds.). Biofertilizantes en Iberoamérica: una visión técnica, científica y empresarial. Imprenta Denad Internacional, Montevideo. Uruguay. p. 11-14.
- Goigochea, D. 2014. Efecto de la aplicación de cuatro dosis de fertilizante orgánico enriquecido con microorganismos eficientes (FERTI EM) en el rendimiento de grano seco del frijol trepador (*Phaseolus vulgaris*) variedad Huasca Poroto en el distrito de Lamas. San Martín-Perú. Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto. Perú.
- González, C.; Gómez, M.; Fernández, M.; Hernández, D.; Tapia, J. L. and Batista, L. 2007. *Diaphorina citri* Kuw. (Hemiptera: Psyllidae), behavior and natural enemies in Cuban citriculture. Program and Abstracts of the XVII IOCV, Adana, Turkey: 180.
- González, M. E.; Castilla, Y. y Hernández, A. 2011. Obtención de suspensiones celulares y embriones somáticos de café (*Coffea canephora* P.), con el empleo de metabolitos bacterianos. Colombiana de Biotecnología. 13 (1) : 123-131.
- González, M.; Rosales, P.; Castilla, Y.; Lacerra, J. A. y Ferrer, M. 2015. Efecto del Bioenraiz® como estimulante de la germinación y el desarrollo de plántulas de café (*Coffea arabica* L.). Cultivos tropicales. 36 (1) : 73-79.
- Gottwald, T. R. 2010. Current epidemiological understanding of Citrus huanglongbing. Ann. Phytopathol. 48 :119-139.
- Guzón, Ada; Alberto, Ailena; Pérez, Victoria; Berriz, R.; Brito, J. M.; González, Aimeé; Castillo, L.; Méndez, Ilda; Hernández, Ana; Hernández, R.; Espina, Mayra; Núñez, Lilia; Martín, Lucy; Díaz, Marleen y Delgado, Denisse. 2011. Catauro de

- herramientas para el desarrollo local. Cáp. 2. Proyectos de desarrollo. Fase 3. Evaluación de la factibilidad económica. p. 45-53.
- Halbert, S. 2005. The discovery of Huanglongbing in Florida. Page 50 In: Proc. of the 2nd Intl. Citrus Canker and Huanglongbing Worksh., Orlando, FL.46. Halbert, S. 2005. The discovery of Huanglongbing in Florida. Page 50 in: Proc. of the 2nd Intl. Citrus Canker and Huanglongbing Worksh., Orlando, FL.
- Halbert, S. E. and Manjunath, K. L. 2004a. Asian citrus psyllids (*Sternorrhyncha: Psyllidae*) and greening disease in citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. Fla. Entomol. 87 : 330 - 354.
- Halbert, S. E. and Nuñez, C. A. 2004. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Sternorrhyncha: Psyllidae) in the Caribbean basin. Fla. Entomol. 87 : 401 - 402.
- Hernández, A.; Ascanio, M.; Cabrera, A.; Morales, M. y Medina, N. 2004. Correlación de la nueva versión de clasificación genética de los suelos de cuba con World Reference Base. Conferencia en Postgrado de Clasificación de suelo. p. 14.
- Hernández, D. 2018. Evaluación del rendimiento y la calidad de los frutos en plantaciones de pomelos con Huanglongbing. Tesis presentada en opción al título de Especialista en Fruticultura Tropical. Universidad de Matanzas.
- Hernández-Rodríguez, A.; Heydrich-Pérez, M.; Diallo, B.; El Jaziri, M. and Vandeputte, O. 2010. Cell-free culture medium of Burkholderia cepacia improves seed germination and seedling growth in maize (*Zea mays*) and rice (*Oryza sativa*). Plant Growth Regul. 60 (3) : 191-197.
- Higa, T. and Wood, M. 2009. Effective microorganisms for sustainable community development. Cooperationwith EM ResearchOrganization, Okinawa, Japan. 4 p.
- Hossu, I. 2015. Efectividad del IHO Bio y HIO mineral en granjas de Indian River. Florida [en línea]. Disponible en: <http://www.IHOagointernational.com>. [Consulta: septiembre, 21 2018].

- Howell, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87 : 4-10.
- Husain, M. A. and Nath, D. 1927. The citrus psylla (*Diaphorina citri* Kuw.) [Psyllidae: Homoptera]. *Entomol. Ser.* 10 : 1 - 27.
- IIFT (Instituto de Investigaciones en Fruticultura). 1999. Principios básicos de la citricultura tropical, Ministerio de la Agricultura. La Habana, Cuba. p. 47-48.
- Isla, E. 2005. Efecto de cuatro concentraciones de microorganismos eficientes (EM), aplicados a pulgones y queresas en naranjo (*Citrus sinensis*) en el Bajo Mayo - San Martín [en línea]. Disponible en: <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/1592>. [Consulta: septiembre, 21 2018].
- Jatha–Muhu, M. 2009. Pueblos aimaras y producción agropecuaria–ecológica. Influencia de la aplicación foliar de microorganismos eficaces (EM) en el establecimiento de alfalfa [en línea]. Disponible en: <http://jatha-muhu.org/revista/percy.pdf>. [Consulta: abril, 19 2018].
- Jorquera, Y. y Yuri, J. A. 2006. Bioestimulantes. Centro de Pomáceas de la Universidad de Talca [en línea]. Disponible en: http://pomaceas.otalca.cl/html/Docs/pdf/2006_06_06.pdf. [Consulta: septiembre, 21 2018].
- Kuffner, M.; Puschenreiter, M.; Wiesshammer, G.; Gorfer, M. y Sessitsch, A. 2008. Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows. *Plant Soil.* (304) : 35-44.
- Lara L., S. E. 2009. Evaluación de varios bioestimulantes foliares en la producción del cultivo de soya (*Glycine max* L.), en la zona de Babahoyo Provincia de Los Ríos [en línea]. Disponible en: <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6573/1/D-39141.pdf>. [Consulta: septiembre, 21 2018].

- Lara, C.; García, T. y Oviedo, L. 2010. Using a solid waste culture medium for growing a native strain having biofertiliser potential. *Colombiana de Biotecnología*. 12 (1) : 103-112.
- Lee, H. A. 1921. The relation of stocks to mottled leaf of citrus leaves. *Phil. J. Sci.* 18 : 85 - 95.
- Lin, C. K. 1963. Notes on citrus yellow shoot disease. *Acta Phytophylact. Sin.* 2 : 243 - 251.
- Lin, K. H. 1956. Observations on yellow shoot on citrus. Etiological studies of yellow shoot of citrus. *Acta Phytopathol. Sin.* 2 : 237 - 242.
- Linares, A. 2014. Evaluación de cuatro, dosis de fertilizante enriquecido con microorganismos eficientes (FERTI EM) en el rendimiento del cultivo de cebolla china, var. Roja Chiclayana), en el distrito de Lamas. Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto. San Martín. Perú.
- Linares, A. 2015. Dosis de Fertilizante con microorganismos eficientes (Ferti EM) en el rendimiento del cultivo de cebolla china (*Allium fistulosum*) variedad roja chiclayana-distrito de Lamas [en línea]. Disponible en: <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/656>. [Consulta: febrero, 20 2018].
- Llauger, R.; Luis, M.; Collazo, C.; Peña I.; González, C.; Batista, L.; Teixeira, D.; Martins, E.; Perdomo, A.; Casín, J. C.; Pérez, J. L.; Cueto, J. R. and Bové, J. M. 2008. Current situation of citrus huanglongbing in Cuba. En: Proceedings of the International Research Conference on huanglongbing. p 97-100.
- Long, S. P. y Orthu, D. R. 2010. More than taking the heat: crops and global change. *Current Opinion Plant Biol.* 13 (3) : 240–247.
- Luis, M.; Collazo, C.; Llauger, R.; Blanco, E.; Peña, I.; López, D.; González, C.; Casín, J. C.; Batista, L.; Kitajima, E.; Tanaka, F. A.; Salaroli, R. B.; Teixeira, D. C.; Martins, E. C. and Bové, J. M. 2009. Occurrence of citrus huanglongbing in

- Cuba and association of the disease with *Candidatus Liberibacter asiaticus*. J. Plant Pathol. 91 : 709-712.
- Marqués, L.; Pascual, M.; Rezende, A.; Barreto, A. y Cavalcante-Alvres, J. 2001. Cultura in vitro de embriões de *Coffea arabica*: Influência de NAA e BAP. Ciênc. Agrotec. 25 (5) :1063-1070.
- Martínez, A. L. and Wallace, J. M. 1967. Citrus leaf – mottle - yellow disease in the Philippines and transmission of the causal virus by a psyllid, *Diaphorina citri*. Plant Dis. Rep. 51: 692 - 695.
- Martínez, V. R. 2002. Biofertilización y producción agrícola sostenible. Retos y perspectivas. XIII Congreso Científico del INCA. Programa y resúmenes. La Habana.
- Martínez-Viera, R. y Dá, B. 2012. Biofertilizantes bacterianos. La Habana: Científico-Técnica. ISBN 978-959-05-0659-8.
- Martínez-Viera, R.; Dibut, B. y Ríos, Y. 2010. Efecto de la integración de aplicaciones agrícolas de biofertilizantes y fertilizantes minerales sobre las relaciones suelo-planta. Cultivos Tropicales. 31 (3) : 27-31.
- McClellan, A. P. D. and Oberholzer, P. C. J. 1965a. Citrus psylla, a vector of greening disease of sweet orange. S. Afr. J. Agric. Sci. 8 : 297 - 298.
- McClellan, A. P. D. and Oberholzer, P. C. J. 1965b. Greening disease of sweet orange: Evidence that it is caused by a transmissible virus. S. Afr. J. Agric. Sci. 8 : 253 - 276.
- McClellan, A. P. D. and Schwarz, R. E. 1970. Greening or blotchy - mottle disease of citrus. Phytophylactica 2 : 177 - 194.
- Medjdoub, R. 2012. Las algas marinas y la agricultura [en línea]. Disponible en:<http://www.terralia.com/articulo.php?recordID=5806> [Consulta: agosto, 8 2018].

- Mejía, G. 1995. Agricultura para la vida: Movimientos alternativos frente a la agricultura química. Cali. Colombia: Feriva, 252.
- Mesa, J. R.; Canheque, J.; Jumba, I. y Alvarez, J. L. 2013. Efeito da aplicação de microrganismos eficientes na cultura do milho branco. I Simposio Científico. ASSESCAPLP. Angola 2013. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad “José Eduardo Dos Santos”. Huambo. República de Angola.
- MINAGRI-UNECIT (Ministerio de la Agricultura-Unión de Empresas de Cítricos). 1990. Instructivo técnico para el cultivo y beneficio de los cítricos. CIDA, La Habana. Cuba. p. 31-56.
- Moreno, P.; da Graça, J. V. and Yokomi, R. K. 1996. Preface. Pages 5 - 6 In: Proc. of the 13th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol. P. Moreno; J. V. da Graça and R. K. Yokomi, eds. IOCV, Riverside, CA.
- Moreno, P.; Piquer, J.; Pina, J. A.; Juarez, J.; Cambra, M. 2007. Spread of citrus tristeza virus in a heavily infested citrus area in Spain. In: L. W. Timmer; S. M. Garnsey; L. Navarro, eds. Proceedings of the 10th Conference of the International Organization of Citrus Virologists, Riverside, USA: International Organization of Citrus Virologists. p. 71 - 76.
- NC 223. Frutas Cítricas. Especificaciones. 2002.
- NC 77-11. Métodos de Ensayo. Frutos y Vegetales Naturales. 1981.
- NC 77-97. Frutas y Vegetales Naturales. Frutas Cítricas. Especificaciones. 1993.
- NC-ISO 2173. Productos de Frutas y Vegetales. Determinación del contenido de sólidos solubles. Código refractométrico. (ISO 2173:1978, IDT). 2001.
- NC-ISO 750. Productos de Frutas y Vegetales. Determinación de la acidez valorable. (ISO 750:1998, IDT). 2001.
- Núñez, J. Y. 1998. Validación de una técnica de PCR anidada para el diagnóstico de HLB en Cuba. Tesis en opción al Título de Licenciada en Microbiología. Universidad de la Habana.

- Oberholzer, P. C. J.; Von Standen, D. F. A. and Basson, W. J. 1965. Greening disease of sweet orange in South Africa. p. 213 - 219 In: Proc. of the 3rd Conf. Intl. Organ. Citrus Virol. W. C. Price, ed. Univ. Florida Press, Gainesville, FL.
- Parker, J. K.; Wisotsky, S. R.; Johnson, E. G.; Hijaz, F. M.; Killiny, N.; Hilf, M. E and De la Fuente, L. 2014. Viability of *Candidatus Liberibacter asiaticus* prolonged by addition of juice to culture medium. *Phytopathology* 104 : 15-26.
- Pedraza, R.; Teixeira, O.; Fernández, K.; Scavino, A.; García de Salamone, I.; Baca, B. E.; Azcón, R.; Baldani, O. y Bonilla, R. 2010. Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. *Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 11 (2) : 155-164.
- Peñañiel, B. y Donoso, M. 2004. Evaluación de diferentes dosis de microorganismos eficientes (EM) en el cultivo de pepino (*Cucumis sativus*) híbrido atar ha-435 [en línea]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/html/695/69530103/69530103.html>. [Consulta: noviembre, 18 2018].
- Pino, R. J. M. 2014. Dosis de fertilizante con microorganismos benéficos (Ferti EM) en el cultivo de un ecotipo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), en el distrito de Lamas, Región San Martín. Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto. Región San Martín, Perú.
- Prévez, L. y Sánchez, M. 1997. Manual de producción más limpia para el sector industrial cítrica. Programa de producción más limpia de la Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (ONUDI). p. 2-16.
- Quaggio, J. A.; Tank, A. E. y Cantarella, H. 2015. Nutrición de Cítricos de Alto Rendimiento en Suelos Ácidos [en línea]. Disponible en: <http://www.intagrisc.br>. [Consulta: abril, 15 2018].
- Ramírez, M. 2006. Tecnología de microorganismos efectivos (EM) aplicada a la agricultura y medio ambiente sostenible [en línea]. Disponible en:

- file:///C:/Users/Maylhi/Downloads/MICROORGANISMOS%20EFICIENTES%20TESIS.pdf. [Consulta: abril, 15 2018].
- Rampey, R.; Leclere, S.; Kowalczyk, M.; Ljung, K.; Sandberg, G. and Bartel, B. 2004. A family of auxin-conjugate hydrolases that contributes to free indole-3 acetic acid levels during Arabidopsis germination. *Plant Physiology*. (135) : 978-988.
- Raychaudhuri, S. P.; Nariani, T. K. and Lele, V. C. 1969. Citrus die-back problem in India. *Proc. of the 1st Intl. Citrus Symp.* 3 : 1433 - 1437.
- Raychaudhuri, S. P.; Nariani, T. K.; Ghosh, S. K.; Viswanath, S. M. and Kumar, D. 1974. Recent studies on citrus greening in India. p. 53 - 57 In: *Proc. of the 6th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol.* L. G. Weathers and M. Cohen, eds. Univ. California, Div. Agric. Sci.
- Recharte, D. C. 2015. Evaluación de microorganismos eficientes autóctonos en el rendimiento del cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) en San Gabriel – Abancay [en línea]. Disponible en: <http://repositorio.utea.edu.pe/handle/utea/30>. [Consulta: abril, 15 2018].
- Reinking, O. A. 1919. Diseases of economic plants in southern China. *Phil. Agric.* 8 : 109 - 135.
- Ríos, J. O. 2017. Dosis nutricional a base de microorganismos eficaces (Ferti EM) en la productividad del cultivo de Caihua (*Cyclanthera pedata*) en la localidad de Lamas. Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto, Perú.
- Rodríguez, A. 1997. Comportamiento de los contenidos de potasio en suelos de la ECVG de Jagüey Grande. Ponencia Presentada en el XII Forum de Ciencia y Técnica. Estación Experimental de Cítricos de Jagüey Grande “Félix Duque Guelmes”. IICT. Cuba.

- Saidi, Y.; Finka, A. y Goloubinoff, P. 2011. Heat perception and signalling in plants: a tortuous path to thermotolerance Minireview. *New Phytologist*. 190 (3) : 556–565.
- Sanabria, H. 2011. Beneficio de aminoácidos ante situaciones de estrés del cultivo. *Hortalizas* [en línea]. Disponible en: <http://www.hortalizas.com/articulo/26092/beneficios-de-aminoacidos-ante-situaciones-de-estres-del-cultivo>. [Consulta: noviembre, 11 2018].
- Schneider, H. 1968. Anatomy of greening-disease sweet orange shoots. *Phytopathology* 58 :1155-1160.
- Shirani, S.; Mahdavi, F. y Maziah, M. M. 2009. Morphological abnormality among regenerated shoots of banana and plantain (*Musa* spp.) after in vitro multiplication with TDZ and BAP from excised shoot tips. *African Journal of Biotechnology*. 8 (21) : 5755-5757.
- Singh, S. y Rajam M. V. 2009. Citrus biotechnology: Achievements, limitations and future directions. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 15 (1) : 3-23. .
- Staswick, P.; Serban, B.; Rowe, M.; Tiryaki, I.; Maldonado, M.; Suza, W. 2005. Characterization of an Arabidopsis enzyme family that conjugates amino acids to indole-3 acetic acid. *Plant Cel.* (17) : 616-627.
- Sutton, B. D.; Duan, Y. P.; Halbert, S.; Sun, X. A.; Schubert, T. and Dixon, W. 2005. Detection and identification of citrus Huanglongbing (greening) in Florida, USA. p. 59 In: Proc. of the 2nd Intl. Citrus Canker and Huanglongbing Workshop, Orlando, FL.
- Taiz, L. y Zeiger, E. 2006. Auxin: The growth hormone. En: Associates, S. (ed). *Plant Physiology*. SinauerAssociates. Sunderland, M. A. p. 424-460.
- Takushi, T.; Toyozato, T.; Kawano, S.; Taba, S.; Ooshiro, A.; Numazawa, M. and Tokeshi, M. 2007. Starch method for simple, rapid diagnosis of citrus huanglungbing using iodine to detect high accumulatuion of starch in citrus leaves. *Ann Phytopathol Soc Japan* 73 : 3-8.

- Talon, M. y Gmitter, J. G. 2008. Citrus Genomics. Intern. J. Plant Genomics. p. 1-17.
- Tangoa, T. E. 2009. Efecto de microorganismos eficaces (EM) en el rendimiento de cebolla china (*Allium fistulosum* L.) variedad „Simba“ en el Bajo Mayo – San Martín”. Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto. Perú.
- Teixeira, D. C.; Ayres, A. J.; Kitajima, E. W.; Tanaka, F. A. O.; Danet, J. L.; Jagoueix - Eveillard, S.; Saillard, C. and Bové, J. M. 2005a. First report of a Huanglongbing - like disease of citrus in São Paulo State, Brazil, and association of a new liberibacter species, "*Candidatus Liberibacter americanus*", with the disease. Plant Dis. 89 : 107.
- Teixeira, D. C.; Wulff, N. A.; Martins, E. C.; Kitajima, E. W.; Bassanezi, R.; Ayres, A. J.; Saillard, C. and Bové, J. M. 2008. A Phytoplasma closely related to the Pigeon Pea Witches'-Broom phytoplasma (16Sr IX) is associated with Citrus huanglongbing symptoms in the state of São Paulo, Brazil. Phytopathol. 98 (9) : 977-984.
- Teixeira, D. C.; Saillard, C.; Jagoueix - Eveillard, S.; Danet, J. L.; Ayres, A. J. and Bové, J. M. 2005b. "*Candidatus Liberibacter americanus*" associated with citrus Huanglongbing (greening disease) in São Paulo State, Brazil. Intl. J. Syst. Evol. Microbiol. 55 : 1857 - 1862.
- Terry, E.; Leiva, A. y Hernández, A. 2005. Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). Colombiana de Biotecnología. 7 (2) : 47-54.
- Thirumala, M.; Vishnuvardhan-Reddy, S. y Mahmood, S. K. 2010. Production and characterization of PHB from two novel strains of Bacillus spp. isolated from soil and activated sludge. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 37(3) : 171-178.

- Tirtawidjaja, S. 1980. Citrus virus research in Indonesia. p. 129 - 132 In: Proc. of the 5th Conf. Intl. Organ. Citrus Virol. W. C. Price, ed. Univ. Florida Press, Gainesville, FL.
- Torrientes, D. 2010. Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar. Perspectiva de su uso en Cuba. Cultivos Tropicales. 31 (1) : 19-26.
- Valencia, H.; Sánchez, J.; Vera, D.; Valero, N. y Cepeda, M. 2007. Microorganismos solubilizadores de fosfatos y bacterias fijadoras de nitrógeno en páramos y región cálida tropical. Ed. Colombia . p. 169-183.
- Valero, N. 2007. Determinación del valor fertilizante de microorganismos solubilizadores de fosfato en cultivos de arroz. p.169-183.
- Van der Merwe, A. J. and Andersen, F. G. 1937. Chromium and manganese toxicity. Is it important in Transvaal citrus greening? Fmg. S. Afr. 12 : 439 - 440.
- Vera, D.; Pérez, H. y Valencia, H. 2002. Aislamiento de hongos solubilizadores de fosfatos de la rizosfera del arazá (*Eugenia stipitata*, Myrtaceae). Acta Biol. Colomb. 7 : 33-40
- Yulu, X. 2014. Experiences of management of the newlink established groves under severe HLB stress in China. Ron Sequeira. USDA. APHIS, PPQ. Center for Plant Health and Science and Technology XU Changbao, CEN. Yijing, DENG Xiaoling South China Agricultural University, Guangdong, China. p.15.
- Zárate, J. D. 2012. El uso de bioestimulantes se traduce en cultivos sanos y fuertes [en línea]. Disponible en: <http://www.horticultivos.com/component/content/article/49-front-page/605-el-uso-de-bioestimulantes-se-traduce-en-cultivos-sanos-y-fuertes>. [Consulta: agosto, 18 2018].
- Zhang, W. C. 1981. Development and outlook of citrus industry in China. Proc. of the Intl. Soc. Citricult. 2 : 987 - 990.

- Zhao X. Y. 2006. Huanglongbing in China. p. 3 In: Proc. of the Huanglongbing - Greening Intl. Workshop, Ribeirão Preto, Brazil.
- Zhao, X. Y. 1981. Citrus yellow shoot (Huanglungbin) in China: A review. Proc. of the Intl. Soc. Citricult. 1: 466 - 469.

8. ANEXOS

Anexo 1. Tabla de interpretación de los análisis foliares en cítricos^z.

Elemento	Deficiente	Bajo	Satisfactorio	Alto
	% de materia seca en hojas			
Nitrógeno	0,6-1,90	1,90-2,10	2,2-2,7	2,8-3
Fósforo	<0,07	0,07-0,11	0,12-0,18	0,19-0,20
Potasio	0,15-0,30	0,40-0,90	1,00-1,70	1,80-1,90
Calcio	<2,0	2,2-2,9	3,0-6,0	6,1-6,9
Magnesio	0,05-0,15	0,16-0,20	0,30-0,60	0,7-1,0
En ppm de la materia seca de la hoja				
Boro	<15	15,0-40,0	50,0-200	200-250
Cobre	<4,0	4,1-5,0	5,1-15	15-20
Hierro	<40	40,0-60,0	80,0-150	>150
Manganeso	5,0-20,0	21,0-24,0	25,0-100	100-250
Cinc	4,0-15,0	15,0-24,0	25,0-100	100-200

^z Según Instructivo Técnico para el Cultivo y Beneficio de los Cítricos.