EFECTOS DE BIOESTIMULANTES PARA SISTEMAS ORGÁNICOS Y SUSTENTABLES EN LIMÓN 'TAHITÍ' (*Citrus latifolia* Tanaka)

Por

Carlos Rubén Flores Torres

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

Horticultura

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ
2013

Aprobado por:

_____	_____
José Pablo Morales Payán, Ph.D. Presidente del Comité	Fecha
_____	_____
Rubén Vélez Colón, M.S. Miembro del Comité	Fecha
_____	_____
Bryan R. Brunner Fulton, Ph.D. Miembro del Comité	Fecha
_____	_____
Alejandro Segarra Carmona, Ph.D. Miembro del Comité	Fecha
_____	_____
Bernadette Delgado, Ph.D. Representante de la Oficina de Estudios Graduados	Fecha
_____	_____
Skip Van Bloem, Ph.D. Director del Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales	Fecha

ABSTRACT

Experiments were conducted during 2010 and 2011 in Lajas, Puerto Rico, to determine the effects of two biostimulants (agricultural formulations of an *Ascophyllum nodosum* extract and a blend of amino acids + potassium) on the fruit yield and quality, as well as abundance of selected pests of 'Tahiti' lime. The two biostimulants were sprayed several times on the foliage of the Tahiti lime trees during months before and during crop flowering. Treatment trends of fruit yield response were similar in both years, although yield was lower in 2011 than in 2010, which was attributed to branch pruning after the 2010 harvest. Biostimulant treatments did not affect the abundance of aphids and the Asian citrus psyllid; as compared to the control, biostimulants did not affect leaf miners, but there were differences in the effects of amino acids and alga extracts on that pest. The biostimulants did not significantly affect time of flowering and did not enhance the concentration of chlorophyll in the leaves, fruit retention, fruit juice volume, marketable fruit number, and fruit weight. However, both biostimulants significantly reduced the pH of lime juice, and some treatments resulted in lower soluble solid concentration in the juice as compared to the control.

RESUMEN

Se condujeron experimentos en el 2010 y el 2011 en Lajas, Puerto Rico, para determinar los efectos de dos bioestimulantes (formulaciones agrícolas de un extracto del alga *Ascophyllum nodosum* y una mezcla de amino ácidos + potasio) en la productividad y calidad de frutos, así como en la abundancia de plagas selectas de limón 'Tahití'. Los bioestimulantes fueron asperjados al follaje de los árboles de limón cuatro o cinco veces en los meses previos a la floración y durante la floración e inicio del desarrollo del fruto (enero-marzo o enero-abril). El rendimiento fue menor en el 2011 que en el 2010, lo cual fue atribuido a una poda de ramas después del experimento del 2010 y antes del experimento del 2011. Los biostimulantes no tuvieron efectos significativos en la abundancia de áfidos y del sílido asiático de los cítricos; en comparación con árboles control, los bioestimulantes no afectaron a los minadores de las hojas, pero se encontraron diferencias significativas entre los efectos de tratamientos con extracto de alga y con aminoácidos en los minadores de hojas. Los tratamientos con bioestimulantes no afectaron significativamente el tiempo de floración de los árboles y no mejoraron la concentración de clorofila en las hojas, retención de frutos, volumen de jugo en los frutos, número de frutos mercadeables y peso de frutos. Sin embargo, ambos bioestimulantes redujeron significativamente el pH del jugo de limón, y algunos tratamientos redujeron la concentración de solidos solubles del jugo con respecto al control.

© Carlos R. Flores Torres, 2013.

AGRADECIMIENTOS

Mi más grande agradecimiento se lo doy a Dios, por enseñarme cada día quien soy y hasta dónde he llegado y podre llegar. Por darme fortaleza, entendimiento y sobre todo la salud para llegar a donde me encuentro en estos momentos de mi vida. Gracias a mi familia por darme ese legado de agrónomos que luchamos por nuestra agricultura y por siempre creer en mí y apoyarme en mis decisiones. Gracias a mi prima Agro. Luisa Flores, M.S. por estar siempre allí en las buenas y en las malas, presionarme porque sabe lo que puedo dar y brindarme su confianza y sabiduría.

Al Dr. José Pablo Morales Payán por darme la gran oportunidad de continuar estudios graduados bajo su tutela y darme la enseñanza desde mis estudios de bachillerato hasta la maestría. A los investigadores Dr. Bryan R. Brunner Fulton, Dr. Alejandro Segarra Carmona, Rubén Vélez Colón, M.S. por formar parte de mi comité y por ayudarme en el trayecto. A Sonia L. Martínez Garrastazú, M.S. por su ayuda y consejos y al Dr. Raúl Macchiavelli por su gran ayuda y consejos con las dudas en los análisis estadísticos.

Un agradecimiento especial a mi amigo Jorge L. Fuentes Fuster, por su gran ayuda en los momentos de fuerte trabajo de campo, por sus consejos, estando en las buenas y en las malas y aguantar ese sol lajeño junto a mí. También a Luis De la Cruz, Alfredo Aponte, Mabel Vega, Emmanuel Lasalle y Agro. Juan Toro B.S por la ayuda que me brindaron en el transcurso de la investigación.

También quiero agradecer a el personal y empleados del Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales; Floripe Cancel, Evelyn Rosselló, Jeannette Morales, Norma García y Dr. Skip Van Bloem.

Los costos de esta investigación fueron financiados parcialmente por el proyecto Z-226 de la Estación Experimental Agrícola de la UPR-Mayagüez. Agradezco a esas fuentes de recursos.

¡Mis más grandes agradecimiento a todos, porque forman parte de este gran logro!

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación es dedicado a mi familia y en especial a mi madre, Lilliam Torres Martínez y mi abuela María Ester Martínez García por siempre escucharme y darme los más grandes consejos de mi vida. Por siempre inculcarme buenos valores y respeto hacia los demás. Por apoyarme y entenderme en los momentos más difíciles y estar ahí siempre que las necesito, gracias por siempre estar ahí. Esto es para ustedes. Las Amo.

TABLA DE CONTENIDO

ABSTRACT ii
RESUMEN iii
COPYRIGHT iv
AGRADECIMIENTOS iv
DEDICATORIA vi
TABLA DE CONTENIDO vii
LISTA DE CUADROS ix
LISTA DE FIGURAS x
1.INTRODUCCIÓN 1
2. OBJETIVOS 4
3. REVISIÓN DE LITERATURA 5
3.1 AGRICULTURA ORGÁNICA 5
3.2 LIMÓN O LIMA 'TAHITÍ' *CITRUS LATIFOLIA* TANAKA 7
3.3 BIOESTIMULANTES PARA CULTIVOS. 8
4. MATERIALES Y MÉTODOS 13
4.1 LOCALIZACIÓN Y MANEJO DEL HUERTO EXPERIMENTAL 13
4.2 TRATAMIENTOS, DISEÑO EXPERIMENTAL, EVALUACIONES Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO 14
4.3 EVALUACIONES. 17
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 20
5.1 CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA EN LAS HOJAS. 20
5.2 ABUNDANCIA DE PLAGAS SELECTAS. 21
5.3 FLORACIÓN DE LOS ÁRBOLES. 26
5.4 RETENCIÓN DE FRUTOS. 26
5.5 NÚMERO Y PESO DE FRUTOS COMERCIABLES POR ÁRBOL. 28
5.6 VOLUMEN DE JUGO EN LA FRUTA EL DÍA DE COSECHA 30
5.7 CONCENTRACIÓN DE SOLIDOS SOLUBLES Y PH DEL JUGO DE LA FRUTA EL DÍA DE COSECHA 32
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 35
7. LITERATURA CITADA 37
8. APÉNDICES 375

APÉNDICE A. ANÁLISIS DEL SUELO UTILIZADO PARA LOS EXPERIMENTOS EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL EN LAJAS, PUERTO RICO. 45

APÉNDICE B. TEMPERATURA (^{O}C) Y PRECIPITACIÓN MENSUAL 2010 Y 2011, EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL EN LAJAS, PUERTO RICO.. 46

APÉNDICE C. ANÁLISIS DE VARIANZA DE CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE CLOROFILA DURANTE LA TEMPORADA EN HOJAS DE LIMÓN 'TAHITÍ' EN LAJAS, PUERTO RICO, 2010 Y 2011. 47

APÉNDICE D. ANÁLISIS DE VARIANZA DE ABUNDANCIA DE MINADORES Y AFIDOS EN LIMON 'TAHITÍ' EN PRE- Y POST-APLICACIÓN DE BIOESTIMULANTES EN LAJAS, PUERTO RICO 2010 Y 2011..... 48

APÉNDICE E. ANÁLISIS DE VARIANZA DE DIFERENCIA EN LA ABUNDACIA DE MINADORES Y ÁFIDOS EN LIMÓN 'TAHITÍ' EN PRE- Y POST-APLICACIÓN DE BIOESTIMULANTES EN LAJAS, PUERTO RICO, 2010 Y 2011. 49

APÉNDICE F. ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL DE ABUNDANCIA DE MINADORES Y ÁFIDOS CON RESPECTO A LA CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA EN LAS HOJAS DE LIMÓN 'TAHITÍ' EN LAJAS, PUERTO RICO, 2010 Y 2011 51

APÉNDICE G. ANÁLISIS DE VARIANZA DE FLORACIÓN DE ÁRBOLES DE LIMÓN 'TAHITÍ' EN FEBRERO EN LAJAS, PUERTO RICO, 2010 Y 2011.....53

APÉNDICE H. ANÁLISIS DE VARIANZA DE RETENCIÓN DE FRUTOS DE LIMÓN 'TAHITÍ' EN LAJAS, PUERTO RICO, 2010 Y 2011 54

APÉNDICE I. ANÁLISIS DE VARIANZA DE NÚMERO Y PESO DE FRUTAS MERCADEABLES DE LIMÓN 'TAHITÍ' EN LAJAS, PUERTO RICO, 2010 Y 2011. 55

APÉNDICE J. ANÁLISIS DE VARIANZA DE VOLUMEN DEL JUGO EL DÍA DE LA COSECHA EN EL JUGO DE LIMÓN 'TAHITÍ' EN LAJAS, PUERTO RICO, 2010 Y 2011. 57

APÉNDICE K. ANÁLISIS DE VARIANZA DE CONCENTRACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES (BRIX) Y PH EN EL JUGO DE LIMÓN 'TAHITÍ' EN LAJAS, PUERTO RICO, 2010 Y 2011. 58

LISTA DE CUADROS

Cuadros **Páginas**

Cuadro 1. Tratamientos de extracto de alga *Ascophyllum nodosum* y mezcla de aminoácidos + K evaluados en limón ‘Tahití’ en enero-abril del 2010 y 2011 en Lajas, Puerto Rico..... 16

LISTA DE FIGURAS

Figuras **Página**

Figura 1. Cambios durante 10 semanas en el número de minas de *Phyllocnistis citrella* por 10 hojas de limón 'Tahití' tratado con bioestimulantes, 2010 ……. 21

Figura 2. Cambios durante 10 semanas en el número de minas de *Phyllocnistis citrella* por 10 hojas de limón 'Tahití' tratado con bioestimulantes, 2011…….. 22

Figura 3. Número de minas de *Phyllocnistis citrella* por cada 10 hojas de limón 'Tahití' a los 70 días de la primera aplicación de bioestimulantes, 2011. ……..... 23

Figura 4. Cambios durante 10 semanas en el número de áfidos *Toxoptera* spp por 10 hojas de limón 'Tahití' tratado con bioestimulantes, 2010…….**.....** 24

Figura 5. Cambios durante 10 semanas en el número de áfidos *Toxoptera* spp por 10 hojas de limón 'Tahití' tratado con bioestimulantes, 2011…….**.....** 25

Figura 6. Efecto de bioestimulantes en la retención de frutos en árboles de limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico…….. 28

Figura 7. Número de frutos comerciables por árbol de limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico, 2010-2011…… 29

Figura 8. Peso de frutos comerciables de árboles de limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico, 2010-2011. ……. 30

Figura 9. Volumen del jugo de limón 'Tahití' el dia de la cosecha.…….**....** 32

Figura 10. Concentracion de sólidos solubles en el jugo de la fruta…..……... 33

Figura 11. Valor de pH del jugo de la fruta……... …….. 34

1. INTRODUCCIÓN

Los frutales son un sector importante de la agricultura en Puerto Rico, con ingresos para los productores de unos 30.3 millones de dólares en el año fiscal 2009-2010 (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2012). Los cítricos (*Citrus* spp) han estado entre los cinco cultivos de frutas más importantes en Puerto Rico desde hace décadas. El limón ‘‘Tahití’ o limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) se encuentra entre los cultivos frutícolas de más rápida expansión en términos de superficie y valor económico, con nuevas plantaciones que se han estado estableciendo en el lado sur de la isla (comunicación personal de José Zamora, especialista en Fruticultura del Servicio de Extensión Agrícola de la UPR). En el año fiscal 2009-2010, los cítricos representaron aproximadamente el 33% del valor total en finca de la cosecha de fruta en Puerto Rico (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2012).

La cantidad de limón producido en Puerto Rico es insuficiente para suplir la cantidad demandada por los consumidores y la escasez de terrenos para nuevas plantaciones requiere que los aumentos de la producción sean alcanzados aumentando la productividad del cultivo. En limón en el sur de Puerto Rico se han registrado tasas de aborto de aproximadamente 90 a 95% de frutos (comunicación personal de J. Pablo Morales-Payán, Ciencias Agrícolas, UPR-Mayagüez) y las prácticas que promuevan la retención de frutas en el árbol pudieran ser una herramienta valiosa para mejorar la productividad de este cultivo y los ingresos de los productores.

Una de las prácticas que pudiera usarse para reducir el aborto de frutos en limón ‘Tahití’ es la aplicación de reguladores fisiológicos de tipo hormonal y/o de bioestimulantes no hormonales. Los efectos de reguladores y bioestimulantes pueden ser diferentes en especies distintas de

cítricas; por ejemplo, en naranja dulce (*Citrus sinensis*) se redujo el aborto de frutos con aplicación de brassinolida (Agustí et al., 1996; Sugiyama y Kuraishi, 1989), pero no en limón 'Tahití' (Serciloto et al., 2003). En México, Rojas (1998), Cañizares y Rojas (2001) y Pérez-Gutiérrez y colaboradores (2007) reportaron que algunos reguladores como la cianamida y el ácido 2-cloroetilfosfónico (etefón) pueden provocar la floración fuera de la época natural del limón 'Tahití'.

Otros investigadores han reportado menor porcentaje de frutas caídas en limón 'Tahití' con aplicaciones foliares de ácido giberélico durante la floración (Sánchez et al., 2001; Serciloto et al., 2003; Spozito, 1999). Por otro lado, Cruz et al. (2008) publicaron que la productividad de frutos de limón 'Tahití' fue mayor al aplicar paclobutrazol en los meses con temperaturas <20 C, pero no en meses con temperaturas más altas, mientras que Lopes de Siqueira y Chamhum Saloamo (2002) y Delgado et al. (1995) encontraron que al aplicar paclobutrazol aumentaba el número de frutos de limón 'Tahití' sin afectar el tamaño del fruto.

Con los ejemplos mencionados en el párrafo anterior se puede establecer que con algunos reguladores tradicionales de fisiología de cultivos se puede reducir el aborto floral y aumentar la cantidad y tamaño de frutos en limón 'Tahití'. Sin embargo, los productores de fruta orgánica no pueden usar reguladores tradicionales sintéticos a base de auxinas, paclobutrazol, o cianamida. Incluso entre productores convencionales pudiera existir preocupación por el posible impacto ecológico de reguladores sintéticos tradicionales o de que residuos de esos productos en los frutos puedan causar rechazo entre los consumidores.

En ese sentido, los productores han ido orientándose al uso de agroquímicos más amigables al ambiente, incluyendo extractos o derivados de plantas terrestres y marinas. Para los productores interesados en causar menor impacto negativo en el medio ambiente o con temor a

rechazo de su producción por residuos de productos tradicionales, pueden ser más atractivos los productos naturales con efecto bioestimulante en los cultivos, tales como extractos del alga marina *Ascophyllum nodosum*. Otra opción para reducir el aborto de frutos y mejorar el rendimiento de limón son las mezclas de aminoácidos y péptidos para uso agrícola. Estas mezclas suelen ser derivados de tejido vegetal o animal sometidos a procesos enzimáticos controlados para dejar libres los aminoácidos y péptidos.

Aunque existen numerosas publicaciones sobre los efectos de extractos de *Ascophyllum nodosum* y mezclas de aminoácidos en el crecimiento y el aumento de la producción de cultivos hortícolas (Abetz y Young, 1983; Morales-Payán y Stall, 2003; Norrie y Hiltz, 1999; Tanaka et al., 2003). Sin embargo, hasta donde sabemos, no se ha estudiado el efecto de extractos de alga y de aminoácidos en la retención de frutos de limón y la calidad de los frutos retenidos en el árbol.

Adicionalmente, hay algunos reportes anecdóticos de que al usar extractos de alga se reducen las poblaciones de ciertos insectos y ácaros, lo que de ser cierto contribuiría a reducir las dosis y o frecuencia de aplicación de productos tradicionales para su control. Ahora que en Puerto Rico hay insectos plaga de cítricas de efecto catastrófico como el sílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*), el uso de bioestimulantes que puedan ayudar a manejar esas plagas pudiera ser parte de un sistema de manejo integrado. Por tanto, es importante determinar si realmente hay un efecto medible de los bioestimulantes en la abundancia de plagas en los árboles de limón.

2. OBJETIVOS

Los objetivos de esta investigación fueron determinar los efectos de dosis y frecuencias de aplicación de formulaciones comercialmente disponibles de un extracto de *Ascophyllum nodosum* y una mezcla aminoácidos con potasio en (1) la retención de frutos y rendimiento de fruta de limón ‘Tahití’, (2) atributos selectos de calidad de la frutas y (3) la abundancia de plagas selectas en ese cultivo.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Agricultura orgánica

Se ha definido la agricultura sustentable o sostenible como el tipo de agricultura que tiene por objetivo buscar la rentabilidad para los productores mientras preserva el ambiente (American Heritage Dictionary, 2011). Para las agencias federales de los Estados Unidos, legalmente la agricultura sustentable es un sistema integrado de prácticas de producción de plantas y animales en un lugar especifico que a largo plazo puede satisfacer las necesidades humanas de alimento y otros productos agrícolas, aprovecha y mejora la calidad de los recursos naturales necesarios para la agricultura y cuando es necesario y apropiado integra controles y ciclos biológicos naturales, manteniendo viables los negocios agrícolas y mejorando la calidad de la vida de los productores y la sociedad en general (NIFA, 2012).

La agricultura orgánica es holística y sustentable, integrando prácticas de producción y conservación que promueven y mejoran la biodiversidad, los ciclos biológicos y la actividad del suelo, asistiéndose de insumos naturales y prácticas biológicas y mecánicas (USDA-ERA, 2012). Los consumidores perciben los productos orgánicos como alimentos más saludables y producidos con menos daño al ambiente, lo que ha contribuido a su popularidad (Badgley, 2006). En el año 2010, las ventas globales de productos orgánicos fueron de aproximadamente $59,000 millones. En el 2011, la producción orgánica certificada era practicada por 1.6 millones de productores en 160 países, ocupando un área de 37 millones de hectáreas (Willer & Lukas, 2012).

En Puerto Rico la agricultura orgánica comercial intensiva es aun pequeña, pero existe mucho interés de productores y consumidores (Carlo, 2007; Martínez, 2003; Morales-Payán & Morales-Cotto, 2008). Muchos productores no se consideran orgánicos sino *ecológicos*, término

que usan para indicar que no cumplen con todas las reglas de certificación del Programa Nacional Orgánico de los Estados Unidos, o que aun cuando cumplen con esas reglas y serían certificables, no han formalizado el proceso de certificación.

Sin embargo, muchos de los productores ecológicos se someten a inspección de asociaciones locales que a su vez siguen reglas internacionales como las de la Federación de Movimientos de Agricultura Orgánica –IFOAM (Morales-Payán & Morales-Cotto, 2008). Encuestas realizadas en Puerto Rico (Carlo, 2007; Morales-Cotto y Morales-Payán, 2008; Morales-Payán, 2009) indican que cerca de dos terceras partes de los entrevistados quisieran consumir alimentos orgánicos frecuentemente y preferirían que fueran producidos en Puerto Rico, incluyendo frutas cítricas.

Existe un mercado para el limón orgánico, tanto en fruta fresca como en jugo. La producción mundial orgánica certificada de cítricas en el 2001 fue de cerca de 600,000 toneladas en 30 países liderados por los Estados Unidos de América (120,000 toneladas), Brasil, Argentina, Costa Rica, Israel, Cuba, Sudáfrica, Marruecos y México (Liu, 2003). El estimado de consumo de cítricas orgánicas de la Unión Europea en el 2000 fue de cerca de 350,000 toneladas con un valor de $500 millones, aproximadamente un 37% del consumo de frutas orgánicas de Europa. En el 2008, Estados Unidos tenía 5,626 hectáreas de cítricas orgánicas, la mayor parte en los estados de California (68%) y Florida (25%) (USDA-ERS, 2012).

México y la República Dominicana, con cerca de 3,000 y 550 hectáreas de limón orgánico, respectivamente, han sido suplidores frecuentes de limones orgánicos frescos a la Unión Europea (ITC, 2009). Por ejemplo, en el 2011, la República Dominicana produjo cerca de 3,000 toneladas de limón ‘Tahití’ orgánico y exportó 1,300 toneladas (aproximadamente un 15% de todo el limón exportado por el país), principalmente hacia Europa y el Caribe (CEI-RD, 2011

y 2012). El mercado internacional para limón fresco y jugo concentrado congelado de limón orgánico es considerado estable y su precio de venta llega a ser 30% más que el precio de jugo de limón convencional. México, Argentina y Brasil son exportadores importantes de jugo congelado de limón orgánico (Hamm et al., 2002; ITC, 2011a y 2011b). Esta información es indicativa de que los mercados locales y de exportación para fruta y jugo de limón orgánico pudieran ser una alternativa interesante para productores de Puerto Rico.

3.2 Limón o lima 'Tahití' *Citrus latifolia* Tanaka.

Llamado también limón verde o persa. Se considera un híbrido entre lima mexicana (*Citrus aurantifolia* Swingle) y la cidra (*Citrus medica*), puesto que las flores están desprovistas de granos de polen u óvulos viables y los frutos la mayoría del las veces carecen de semilla (fruto partenocárpico). El árbol del limón 'Tahití' es vigoroso y ancho, de ramas colgantes y casi sin espinas, de 5 a 6.5 m de alto (15 a 20 pies) y que se puede mantener por debajo de 5 m de alto (15 pies) con poda. Las hojas son anchas y lanceoladas, con pecíolos alados. Produce flores blancuzcas esporádicamente durante el año, pero más abundantemente al inicio del periodo lluvioso después de la sequía.

El fruto es ovalado y en ocasiones es redondo, con cuello corto, el ápice es redondo con un pezón pequeño, de 3.75 a 6.25 cm (1.5 a 2.5 pulgadas de ancho) y 5 a 7.5 cm (2 a 3 pulgadas) de largo; la cáscara es lisa, de color verde intenso hasta que madura y pasa a un color amarillo pálido brilloso; la pulpa es de color amarillo verdoso claro cuando está madura, de sabor ácido y sin el aroma característico del limón criollo. Casi nunca produce semillas y cuando las produce hay pocas las semillas por fruto. Las flores del limón 'Tahití' no tienen polen viable.

El crecimiento de los cítricos no es continuo; el crecimiento vegetativo y el crecimiento reproductor en ramas individuales ocurre en varios tiempos a lo largo del año con períodos

sustanciales de inmovilidad entre ellos (Davenport, 1986). Generalmente solo los brotes bien nutridos y protegidos por un buen número de hojas llegan a formar flores. El botón floral desarrolla hasta convertirse en una flor fisiológicamente madura, que puede ser fecundada o generar un fruto por partenocarpia (Morín, 1983). Un árbol adulto y saludable puede producir entre 100,000 y 200,000 flores, pero cerca del 90% del total de flores sufren caída fisiológica natural o "autoaclareo" en las primera cuatro semanas después de la floración (AGRINFOR, 1999). En la mayoría de los casos, el fruto en limón es partenocárpico, un fruto sin semillas cuya producción no requiere del estímulo sexual pero si necesita el estímulo hormonal que regula el crecimiento de los tejidos ováricos que previenen la abscisión y desarrollan el fruto (Krezdorn, 1986).

El cuajado tiene dos etapas críticas: la primera es el desarrollo de la flor a fruto y la segunda es el mantenimiento del fruto en el árbol hasta un punto en que pueda completar su desarrollo y alcanzar la etapa de maduración y cosecha. Del número total de flores producidas por un árbol, solamente el 1 al 2% llega a cuajar fruto y del total de frutos formados un 10% cae debido a competencia de nutrientes dentro del árbol (AGRINFOR, 1999).

3.3 Bioestimulantes para cultivos

Los bioestimulantes son sustancias exógenas, químicamente orgánicas, de origen natural o artificial, que en concentraciones bajas tienen efectos parecidos a los de algunas de las hormonas vegetales clásicas (auxinas, giberelinas, citokininas, ácido abscísico y etileno) y cuya estructura química no corresponde a las de esas hormonas. Entre las sustancias bioestimulantes se encuentran ácidos grasos, aminoácidos, péptidos, oligosacáridos y polisacáridos, alcoholes, vitaminas, y betaína, entre otras. En el caso de extractos de plantas y algas, suele haber una mezcla de sustancias bioestimulantes que pudiera incluir además algunas de las hormonas

vegetales. Las formulaciones comerciales de bioestimulantes pueden contener extractos de algas marinas, plantas, microrganismos, vitaminas, carbohidratos, lípidos, aminoácidos libres y péptidos. Algunas formulaciones comerciales de bioestimulantes contienen adicionalmente reguladores de crecimiento o nutrientes minerales (Khan et al., 2009; Norrie y Hiltz, 1999).

Entre los efectos de los bioestimulantes en cultivos se encuentran mayor tolerancia a condiciones de estrés biótico (plagas, enfermedades, interferencia de malezas) o abiótico (temperatura, agua, nutrientes), mayor concentración de clorofila y actividad fotosintética, crecimiento acelerado y mayor acumulación de biomasa, aumento en la productividad de frutos, cambios en la concentración de nutrientes en la planta, y mejor calidad estética de la porción comerciable de la planta (Morales-Payán, 2010). Esos efectos han sido asociados con síntesis o activación de enzimas y sustancias que promueven el crecimiento o ayudan a sobrellevar mejor el estrés, aumento de la absorción y/o movimiento más rápido de nutrientes minerales dentro de la planta (Khan et al., 2009).

Muchas formulaciones comerciales contienen extractos de algas marinas de varios géneros, entre ellos *Ascophyllum*, *Laminaria*, *Chondrus* y *Fucus.* Existen formulaciones de extracto de *Ascophyllum nodosum* certificadas para sistemas de producción orgánica (OMRI, 2012). Los extractos de *Ascophyllum nodosum* contienen varias sustancias a las que se atribuyen su efecto bioestimulante, entre ellas zeatina, adenina, betaína, aminoácidos y polisacáridos (Khan et al., 2009).

Hay numerosos reportes sobre el efecto de los extractos de *Ascophyllum nodosum* en el crecimiento de cultivos (Norrie y Hiltz, 1999). En experimentos en vivero conducidos en Puerto Rico se encontraron efectos significativos de extractos de *Ascophyllum nodosum* acelerando el crecimiento de arbolitos de aguacate (*Persea americana*) (Olivera y Morales-Payán, 2011),

guayaba (*Psidium guajava*) (Morales-Payán, 2007), corazón (*Annona reticulata*) (Morales-Payán, 2011), toronja (*Citrus paradisi*) (Morales-Payán, 2008) y mango (*Mangifera indica*) (Morales-Payán, 2010). Spann y Little (2011) reportaron que aspersiones de un extracto de *Ascophyllum nodosum* hicieron que arbolitos de naranja dulce en vivero fueran más tolerantes al estrés por déficit de agua.

También hay reportes sobre el efecto de extractos de *Ascophyllum nodosum* en el rendimiento y la calidad de cultivos hortícolas de fruto. Abdel-Mawgoud y colaboradores (2010) reportaron que en sandía (*Citrullus lanatus*) aplicaciones foliares de un extracto de *Ascophyllum nodosum* aumentaron la acumulación de biomasa de la planta, el peso y el diámetro de las frutas. En Puerto Rico, Fuentes Fuster (2012) encontró que aspersiones foliares de un extracto comercial de *Ascophyllum nodosum* puede aumentar el tamaño de la fruta y la concentración de sólidos solubles en su pulpa. En experimentos en Isabela, Puerto Rico, Morales-Payán y Márquez-Méndez (2008a y 2008b) determinaron que las plantas de sandía tratadas con un extracto de *Ascophyllum nodosum* fueron más precoces y tuvieron mayor rendimiento de frutas que plantas control. También en Puerto Rico, Vega Almodóvar y colaboradores (2009) encontraron que aspersiones foliares de un extracto de *Ascophyllum nodosum* aumentaron la concentración de sólidos solubles del jugo de piña (*Ananas comosus*) 'Cabezona', mientras que Morales-Payán y colaboradores (2007) reportaron aumento en el tamaño de la piña 'Cayena Lisa'. En aguacate 'Butler' en Puerto Rico, la aplicación de un extracto del alga *Ascophyllum nodosum* aumentó significativamente la cantidad de frutos retenidos por el árbol (Flores-Torres et al., 2010).

En pera (*Pyrus communis*) aplicaciones de un extracto de *Ascophyllum nodosum* durante la floración aumentaron el diámetro y del peso de la fruta (Colavita et al., 2011). Eris y

colaboradores (1995) publicaron que aspersiones foliares de un extracto de *Ascophyllum nodosum* aumentaron la concentración de clorofila y azúcares en los frutos de pimiento (*Capsicum annuum*) y el rendimiento del cultivo.

En mandarina (*Citrus reticulata*), Fornes y colaboradores (1995) publicaron que aspersiones de un extracto comercial de *Ascophyllum nodosum* durante la floración y fructificación redujeron la acidez de la fruta, aumentaron su concentración de solidos solubles y adelantaron la cosecha por una semana, aunque no afectaron el volumen de jugo de la fruta. En mandarina 'Satsuma' creciendo en una localidad con temperaturas más altas que la óptima (aproximadamente 25 C), Morales-Payán (2006) reportó que aspersiones de un extracto de *Ascophyllum nodosum* resultaron en aumento del tamaño de la fruta.

Hay algunos reportes científicos sobre efectos de extractos de algas en la abundancia de plagas y la incidencia o severidad de patógenos en algunos cultivos. La aplicación de un extracto de *Ascophyllum nodosum* redujo la severidad de *Alternaria* en el follaje de zanahoria, lo cual fue asociado a aumentos en la concentración de enzimas de defensa en la planta (*Daucus carota*) (Jayaraj et al., 2008). Farouk y colaboradores (2002) también reportaron menor severidad de tizón temprano causado por *Alternaria* en tomate cuando las plantas fueron asperjadas con un bioestimulante basado en *Ascophyllum nodosum*.

Se reportó que aplicaciones de extracto de alga en tomate creciendo en un suelo infestado con nematodos aumentaron el volumen del sistema radicular y redujeron la población de nematodos en las raíces (Featonby-Smith & Staden, 1983). Hankins y Hockey (1990) publicaron que la aspersión de un extracto de *Ascophyllum nodosum* redujo la abundancia del ácaro *Tetranychus urticae* en fresa (*Fragaria x ananassa*). En la revisión de literatura para esta investigación no encontramos publicaciones sobre efectos de extractos de algas en plagas

comunes de cítricas, pero consideramos interesante evaluar ese posible efecto de los bioestimulantes en plagas selectas de limón 'Tahití'.

Se han reportado aumentos significativos de velocidad de crecimiento y acumulación de peso seco en cultivos al aplicarles mezclas de aminoácidos formuladas para uso agrícola. Por ejemplo, el rendimiento de lechuga (*Lactuca sativa*) fue mayor en plantas asperjadas con un bioestimulante a base de aminoácidos y péptidos que en plantas control (Saavedra Torres, 2009); Terán y Rocha-Villegas (2011) obtuvieron resultados similares a los de Saavedra Torres (2009) aplicando mezclas de aminoácidos en lechuga 'Green Salad Bowl'. Adicionalmente, se ha documentado el efecto benéfico de aplicaciones de aminoácidos en la producción de frutos de algunos cultivos. En kiwi (*Actinida deliciosa*) en Chile, Mancilla (2000) reportó que aplicaciones de bioestimulantes a base de aminoácidos aumentaron el diámetro y el número de frutas producidas por árbol. En España, Alcañiz & Moncunill (2000) encontraron que en melocotón (*Prunus persicae*) tratado con una mezcla de aminoácidos y potasio se adelantó la fecha de cosecha, los frutos tuvieron mayor tamaño de frutos y mayor concentración de azúcares y minerales de la pulpa de la fruta.

Se conoce poco sobre el efecto de bioestimulantes en limón 'Tahití', sobre todo en predios manejados orgánica o ecológicamente. Los reportes mencionados en esta revisión sugieren que los extractos de algas y las mezclas de aminoácidos pudieran ser usados por productores orgánicos y productores sustentables para mejorar los rendimientos o la calidad de productos hortícolas, incluyendo cítricas.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Localización y manejo del huerto experimental

Los experimentos de campo se condujeron durante los meses de enero a noviembre del 2010 y de enero a noviembre del 2011, en la Estación Experimental Agrícola (EEA) en Lajas de la Universidad de Puerto Rico-Recinto de Mayagüez. La EEA en Lajas se encuentra en el suroeste de Puerto Rico, en los 18° 01' latitud norte y 67° 04' longitud oeste, a 26 metros sobre el nivel del mar, con una precipitación promedio anual cercana a los 1,227 mm. La temperatura promedio anual en la EEA Lajas en aproximadamente 30°C, con mínima promedio de 16°C y máxima promedio de 32°C. Las condiciones de temperatura y precipitación pluvial durante los dos experimentos de campo de esta investigación se presentan en el Apéndice B.

El huerto de limón utilizado en esta investigación fue establecido en el año 2006, con árboles de limón 'Tahití' injertos sobre mandarina 'Cleopatra'. El suelo donde se estableció el experimento en la EEA en Lajas es un vertisol de la serie Fraternidad (fino, esmectítico, isohipertermico, Typic Hapluster con un pH de 6.7) (NRCS, 2012). En el Apéndice A se muestra el resultado de un análisis de suelo del terreno utilizado.

Durante esta investigación el huerto fue manejado usando prácticas ecológicas, evitando infringir las regulaciones vigentes del Programa Nacional Orgánico de los Estados Unidos de América (USDA, 2010 y 2011), excepto con el uso de un bioestimulante a base de aminoácidos. Por esa razón, los tratamientos con el bioestimulante a base de aminoácidos serían los compatibles con un sistema sostenible, mientras que los tratamientos con el bioestimulante a base de extracto de alga serían los compatibles con un sistema orgánico (OMRI, 2012).

En el manejo del huerto experimental, los desyerbos se efectuaron mensualmente de manera mecánica con un podador motorizado manual. Se aplicaron 10 kg de composta de

residuos de plantas y animales (aproximadamente 2-1-2) por árbol por experimento, con un contenido de 300 g de N, 150 g de P_2O_5 y 300 g de K_2O, lo cual debió ser suficiente para suplir las necesidades del cultivo asumiendo una tasa de liberación de al menos 50% de los nutrientes en un período de 12 meses (Avilán, Leal y Batista, 1992). El cultivo recibió riego por goteo según fue necesario. No se aplicaron fungicidas o insecticidas para evitar interferencia con los tratamientos de bioestimulantes en su posible efecto en las poblaciones de plagas en los árboles de limón.

4.2. Tratamientos, diseño experimental, evaluaciones y análisis estadístico

Los tratamientos fueron distribuidos en diseño de bloques completos al azar con dos árboles por repetición y 9 repeticiones por tratamiento. Los tratamientos fueron aplicaciones foliares de (1) un extracto comercialmente disponible de *Ascophyllum nodosum* (Stimplex™, Acadian SeaPlants Ltd., Nova Scotia, Canadá) y (2) una mezcla comercialmente disponible de aminoácidos para uso agrícola (AminoQuelant-K Low pH®, BioIbérica, Barcelona, España). Los nombres comerciales de las formulaciones de bioestimulantes utilizados en estos experimentos se mencionan únicamente para especificar cuáles formulaciones se utilizaron; esto no constituyen un endoso particular a esas marcas comerciales.

La etiqueta de la formulación de extracto de alga usada en el experimento indica una concentración de ingredientes activos equivalente a 100 partes por millón de kinetina (CDMS, 2012). El extracto contiene zeatina, adenina, betaína, oligosacáridos, polisacáridos, ácidos orgánicos, vitaminas, giberelinas, auxinas, micronutrientes y aminoácidos (Khan et al. 2009; Whapman et al., 1993).

La mezcla agrícola de aminoácidos y potasio contiene 5% en peso por peso de una mezcla de L-alfa aminoácidos libres y activos provenientes de hidrólisis enzimática de tejido orgánico. Los aminoácidos libres presentes en la mezcla son asparagina, serina, glutamina, glicina, histidina, arginina, tirosina, alanina, prolina, cisteina, tirosina, valina, metionina, lisina, isoleucina, leucina, fenilalanina, y triptófano. La mezcla tiene 1% de nitrógeno orgánico, 10% de materia orgánica y 25% de potasio. Los aminoácidos facilitan el movimiento del potasio en las membranas celulares y su transporte hacia los lugares de la planta donde el potasio es usado (BioIbérica, 2012)

Partiendo de las recomendaciones de los fabricantes de los bioestimulantes, se escogieron las dosis de 0 (control), 6 y 12 ml de formulación de extracto de alga por árbol por aplicación y 0, 3 y 6 ml de formulación de aminoácidos + K árbol por aplicación. Los bioestimulantes fueron asperjados en solución acuosa sobre las hojas del cultivo, cubriendo bien el follaje hasta punto de goteo.

Las aplicaciones se repitieron cada 21 días en dos secuencias predeterminadas (desde enero hasta marzo o desde enero hasta abril) durante el período que abarca los meses previos a la floración, la floración y parte del desarrollo de los frutos de limón ‘Tahití’ en el sur de Puerto Rico. Los tratamientos evaluados en esta investigación aparecen en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos de extracto de alga *Ascophyllum nodosum* y mezcla de aminoácidos + K evaluados en limón 'Tahití' en enero-abril del 2010 y 2011 en Lajas, Puerto Rico.

Bioestimulante	Aplicaciones a intervalos de 21 días	Dosis (ml) de formulación comercial por árbol por aplicación	Dosis acumulada de ingredientes activos por árbol (equivalente de kinetina para el extracto de alga o mg de aminoácidos)
Control o testigo	Ninguna	0	0
Extracto de *Ascophyllum nodosum*	Última semana de enero, mitad de febrero, primera semana de marzo y ultima semana de marzo	6	0.0024 mg de kinetina por árbol
Extracto de *Ascophyllum nodosum*	Última semana de enero, mitad de febrero, primera semana de marzo y ultima semana de marzo	12	0.0048 mg de kinetina por árbol
Extracto de *Ascophyllum nodosum*	Última semana de enero, mitad de febrero, primera semana de marzo y ultima semana de marzo y segunda semana de abril	6	0.003 mg de kinetina por árbol
Extracto de *Ascophyllum nodosum*	Ultima semana de enero, mitad de febrero, primera semana de marzo y ultima semana de marzo y segunda semana de abril	12	0.006 mg de kinetina por árbol
Mezcla de aminoácidos + K	Última semana de enero, mitad de febrero, primera semana de marzo y ultima semana de marzo	3	0.60 g de aminoácidos por árbol
Mezcla de aminoácidos + K	Última semana de enero, mitad de febrero, primera semana de marzo y última semana de marzo	6	1.2 g de aminoácidos por árbol
Mezcla de aminoácidos + K	Última semana de enero, mitad de febrero, primera semana de marzo y última semana de marzo y segunda semana de abril	3	0.75 g de aminoácidos por árbol
Mezcla de aminoácidos + K	Última semana de enero, mitad de febrero, primera semana de marzo y última semana de marzo y segunda semana de abril	6	1.5 g de aminoácidos por árbol

4.3 Evaluaciones

Abundancia de plagas selectas en cítricas. En cada árbol se marcaron dos ramas jóvenes en las secciones norte, sur, este, oeste y centro de la copa. Un día antes de la aplicación de bioestimulantes se cuantificaron las plagas minador de la hoja *Phyllocnistis citrella,* el sílido de los cítricos *Diaphorina citri* y los áfidos *Toxoptera aurantii*, *Toxoptera citricida*, y *Aphis spiraecola*. Para cuantificar la abundancia del minador, se contaron las minas por hoja en las primeras 10 hojas (de la punta hacia el tronco) de dos (2) ramas seleccionadas al azar. Para las evaluaciones de áfidos y el sílido de los cítricos, se contaron los individuos adultos en las primeras 10 hojas (de la punta hacia el tronco) de dos (2) ramas seleccionadas al azar. Se hizo la misma evaluación una semana después para cada aplicación de los bioestimulantes. Cuando se iba a hacer la siguiente aplicación, se tomaban otras dos (2) ramas y se hacia la evaluación previa a la aplicación de bioestimulantes y a las mismas ramas se les hacia la evaluación post-aplicación de bioestimulantes. Las evaluaciones se hicieron hasta 70 días después de la primera aplicación de bioestimulantes.

Concentración de clorofila en las hojas (verdor). Cada 21 días, una semana después de cada aplicación de bioestimulantes, se tomaron valores de verdor de las hojas (unidades *Soil Plant Analysis Development*, también conocidas como unidades SPAD). Estas medidas se tomaron utilizando un medidor de clorofila SPAD 502 Konica Minolta (Spectrum Technologies, Plainfield, Illinois, Estados Unidos de América), en hojas completamente expandidas en la parte exterior (expuesta a luz solar directa) de la copa de los árboles. Las unidades SPAD están directamente correlacionadas con la concentración de clorofila y nitrógeno en las hojas (Loh, et al., 2002).

Retención de frutos. A partir de la floración, se marcaron 4 ramas con flores en cada árbol y se contó el número de frutos en la rama cada dos semanas hasta la cosecha. El porcentaje de retención de frutos se calculó en base al mayor número de frutos registrados para cada rama y se promedió el valor de las ramas por árbol.

Rendimiento de frutos comerciables. En el experimento del 2010, se realizaron seis recolecciones de frutas maduras entre mayo 25 y noviembre 24. En el 2011, también se cosecharon frutas maduras en tres ocasiones, entre junio 28 y septiembre 30. Al cosechar los frutos se tomarán el peso y la cantidad de frutos por árbol. Cada año se determinó el número de frutos de limón comerciables (mercadeables) y no comerciables, el peso de frutos, la cantidad de frutos, pH, volumen de jugo, así como el contenido de sólidos solubles en la pulpa de los frutos.

Las frutas se consideraron comerciables si podían ser clasificados como *U.S. N^{o} 1* o *U.S. N^{o} 2* según los estándares del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos: fruta bien formada, firme, con al menos 50 a 75% de la superficie de color verde característico de limón Persa, libre de cicatrices, la cáscara no partida o reseca, sin daños por insectos o enfermedades, ruptura del extremo estilar, decoloración, o quemaduras (USDA, 2006).

Atributos de calidad del fruto al cosechar. Se determinaron atributos básicos de calidad de fruta: longitud, diámetro y coloración externa de la fruta, así como volumen de jugo, pH y concentración de sólidos solubles en el jugo. La fruta cosechada fue evaluada inmediatamente después de la cosecha o fue colocada en ambiente fresco (10-15 C) por hasta 24 horas mientras se registraban sus atributos de calidad.

La longitud y diámetro del fruto se determinaron midiendo la distancia del extremo apical al extremo basal de los frutos, y midiendo el diámetro ecuatorial de las frutas, respectivamente. El pH del juego fue determinado usando un medidor de pH (Cardy Twin pH-meter. Spectrum

Technologies, Plainfield, Illinois, Estados Unidos de América). La concentración de sólidos solubles fue determinada con un refractómetro digital (Reichert AR200 Digital Refractometer r2 mini. Reichter. Depew, New York, Estados Unidos de América). Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando el programa estadístico Infostat (Di Rienzo et al., 2009). Se realizaron análisis de varianza para determinar los efectos de tratamientos por año en las variables de abundancia de plagas, concentración de clorofila en las hojas y productividad y calidad de fruta. Adicionalmente, se realizaron análisis de regresión para evaluar la posible relación entre la concentración de clorofila en las hojas con la abundancia de plagas, así como de la concentración de clorofila en las hojas y la concentración de azúcares en el jugo de la fruta.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Concentración de clorofila en las hojas

No se detectaron diferencias significativas en la concentración de clorofila en las hojas en ninguno de los años de la investigación (Apéndice C). Otros autores han reportado que la aplicación de extractos de algas marinas reducen la tasa de degradación de la clorofila en las hojas, un efecto que pudiera ser resultado de la acción de por betaínas en los extractos de algas marinas (Blunden et al., 1997; Whapman et al., 1993), lo que a su vez pudiera reflejarse en aumento temporal de la concentración de clorofila en las hojas.

En esta investigación no se detectaron cambios significativos de la concentración de la clorofila en las hojas haciendo mediciones cada tres semanas. De existir efectos temporales con duración menor a tres semanas, estos habrían escapado detección, por lo que pudiera recomendarse hacer mediciones de concentración de clorofila con mayor frecuencia para determinar si realmente hay efectos de tratamientos medibles de corta duración en esta variable.

5.2. Abundancia de plagas selectas

Phyllocnistis citrella. No hubo diferencia significativa en la abundancia de minas entre las evaluaciones pre- y post-aplicación de los tratamientos (Apéndice D), por lo que puede afirmarse que los tratamientos no promovieron ataques más fuertes del minador en la hojas jóvenes del cultivo. Ya que no hubo diferencia entre los valores de cantidad de minas inmediatamente previos y posteriores a cada aplicación, para los siguientes análisis de abundancia de esta plaga se usaron solamente los valores obtenidos en muestreos realizados despues de cada aplicación de bioestimulantes.

Las dinámicas poblacionales del minador fueron diferentes en ambos años. En el 2010, no se encontraron diferencias significativas atribuibles a tratamientos en la cantidad de minas por 10 hojas para una misma fecha de muestreo (Apéndice E). En general, el número de minas en las hojas en el 2010 fluctuó entre los meses más frescos (enero y febrero) y los más cálidos (marzo y abril) durante el experimento (Figura 1; Apéndice B). En cambio, en el 2011 no se detectaron minas en enero y febrero, pero si en marzo y abril, que fueron los meses de temperatura más altas durante el período de muestreo (Figura 2), lo cual coincide con los reportes de otros autores que indican que el minador de los cítricos suele ser más abundante en períodos cálidos que en períodos frescos (Hoy et al., 2007; Rodríguez & Cermeli, 1997; Sánchez et al., 2007).

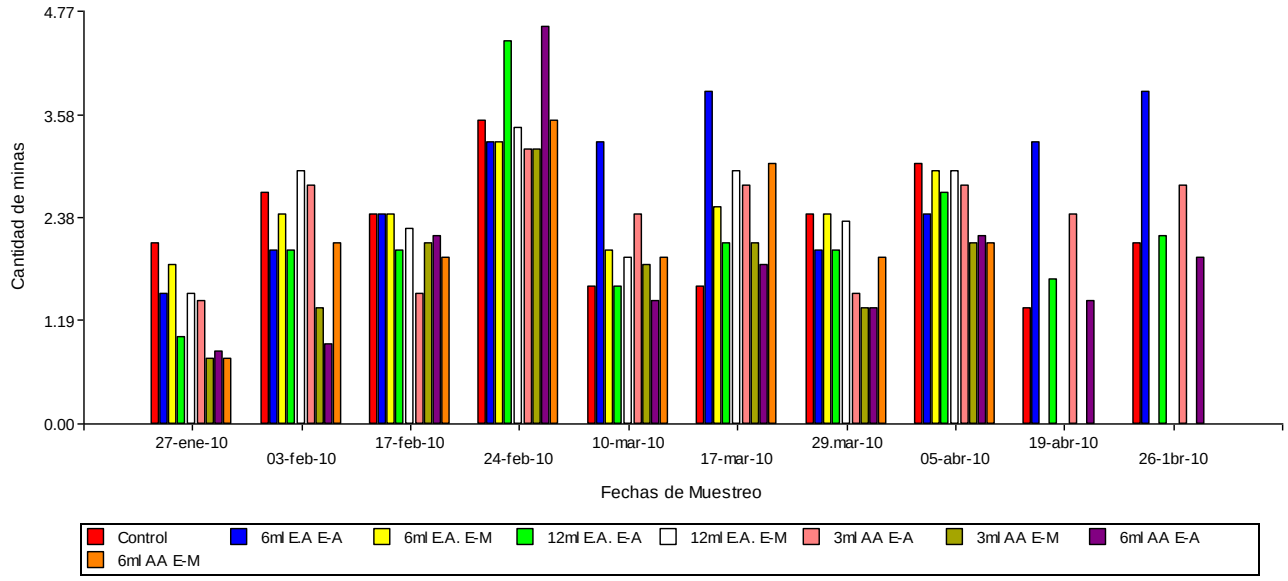

Figura 1. Cambios en el número de minas de *Phyllocnistis citrella* por cada 10 hojas de limón 'Tahití' durante 10 semanas en el 2010 sometidas a 9 tratamientos. Los tratamientos fueron: control, extracto de alga aplicado de enero a abril (E.A. E-A); extracto de alga aplicado de enero a marzo (E.A. E-M); aminoácidos aplicados de enero a abril (AA E-A) y aminoácidos aplicados de enero a marzo (AA E-M).

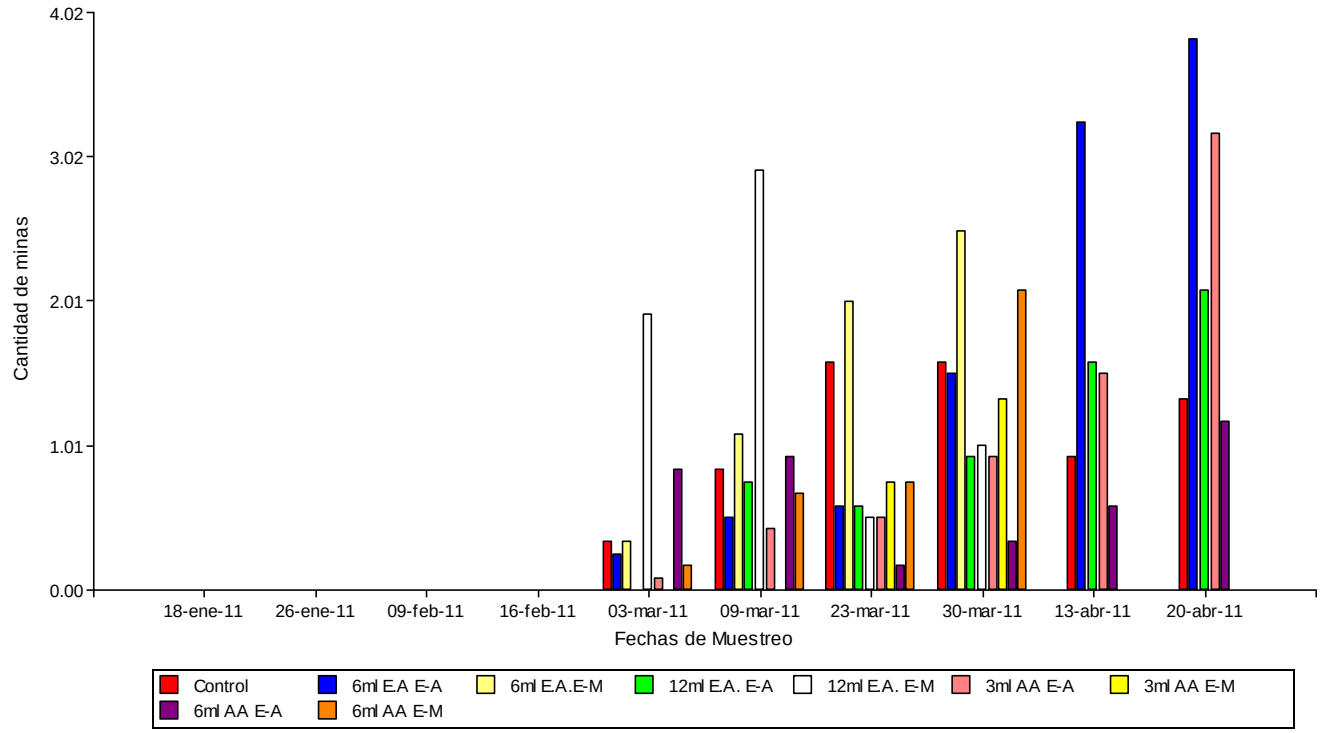

Figura 2. Cambios en el número de minas de *Phyllocnistis citrella* por cada 10 hojas de limón 'Tahití' durante 10 semanas sometidas a 9 tratamientos en el 2011. Los tratamientos fueron: control, extracto de alga aplicado de enero a abril (E.A. E-A); extracto de alga aplicado de enero a marzo (E.A. E-M); aminoácidos aplicados de enero a abril (AA E-A) y aminoácidos aplicados de enero a marzo (AA E-M).

En el 2011, 70 días después de la primera aplicación de bioestimulantes, estadísticamente el número de minas en los árboles control fue el mismo que en los árboles tratados con bioestimulantes. En ese año, el número de minas en 10 hojas fue aproximandamente 2.5 veces mayor en árboles tratados con 6 ml de extracto de alga por aplicación que en árboles tratados con 3 ó 6 ml de la mezcla de aminoácidos + K por aplicación (Figura 3; Apéndice E). Se desconoce la razón por la que árboles tratados con aminoácidos tuvieron menor cantidad de minas en las hojas que los tratados con el extracto de algas a la dosis más alta evaluada en este estudio, pero pudiera ser tema de estudios más detallados.

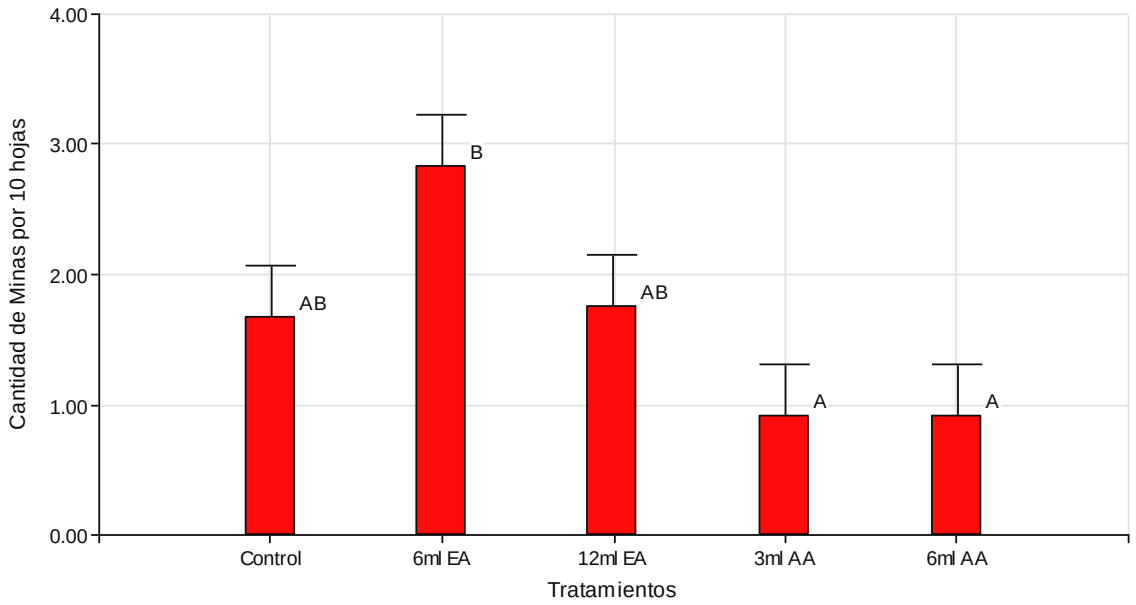

Figura 3. Número de minas de *Phyllocnistis citrella* por cada 10 hojas de limón 'Tahití' a los 70 días de la primera aplicación de bioestimulantes en el 2011. Los tratamientos fueron: control, 6 o 12 ml de extracto de alga (EA) aplicado de enero a marzo, y 3 o 6 ml de mezcla de aminoácidos (AA) aplicados de enero a marzo.

En ambos años, la cantidad de minas se mantuvo por debajo del umbral de 7.4 minas por 10 hojas establecido por Huang y Li (1989). Igualmente, los valores encontrados en esta investigación fueron menores de las cantidades reportadas por otros investigadores en años de ataques severos, como 20 larvas y pupas por 10 hojas en Corrientes, Argentina (Cáceres, 2000), ó de 5 a 40 larvas y pupas por 10 hojas en Marruecos (Mazih y Chitoukli, 2000). Es decir, las poblaciones de minador fueron relativamente bajas en ambas temporadas de la investigación en Lajas.

No se encontró relación significativa entre la concentración de clorofila y el número de minas por hojas (Apéndice F). Estos resultados indican que en las condiciones de los dos años de experimentacion en Lajas, con presión relativamente baja de minador, desde el punto de vista de la abundancia y del posible daño causado por esta plaga, no hubo beneficio medible al aplicar los bioestimulantes.

***Toxoptera* spp.** No hubo efecto significativo de tratamientos en la abundancia de áfidos en el cultivo. Para ambos años de la investigación, el número de áfidos detectados fue relativamente bajo, con menos de 5 individuos por 10 hojas (Apéndice E). Tanto en el 2010 como en el 2011, los áfidos fueron más abundantes al inicio del período de evaluaciones, en enero-febrero, mientras que fueron más escasos en marzo y abril (Figuras 4 y 5).

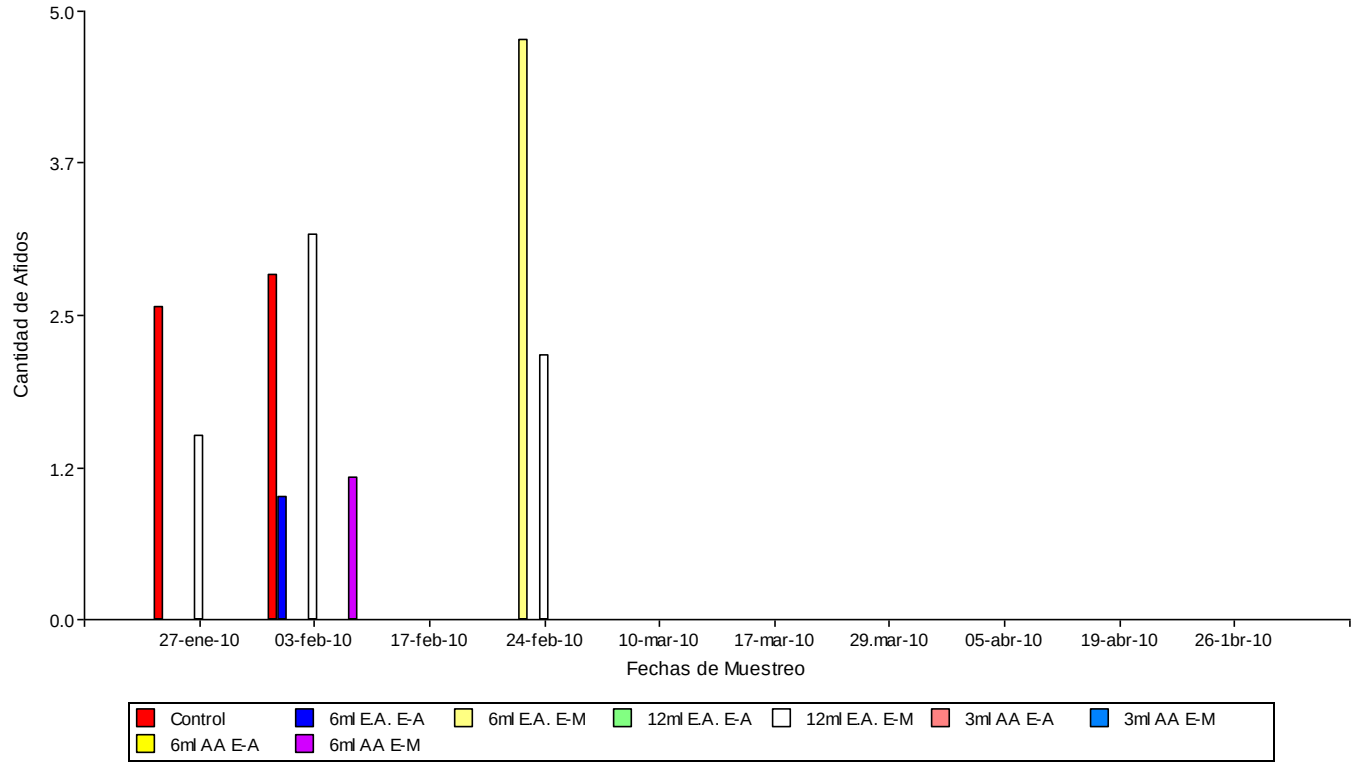

Figura 4. Cambios durante 10 semanas en el 2010 en el número de áfidos *Toxoptera* spp **por cada 10 hojas de limón 'Tahití' sometidas a 9 tratamientos. Los tratamientos fueron: control, extracto de alga aplicado de enero a abril (E.A. E-A); extracto de alga aplicado de enero a marzo (E.A. E-M); aminoácidos aplicados de enero a abril (AA E-A) y aminoácidos aplicados de enero a marzo (AA E-M).**

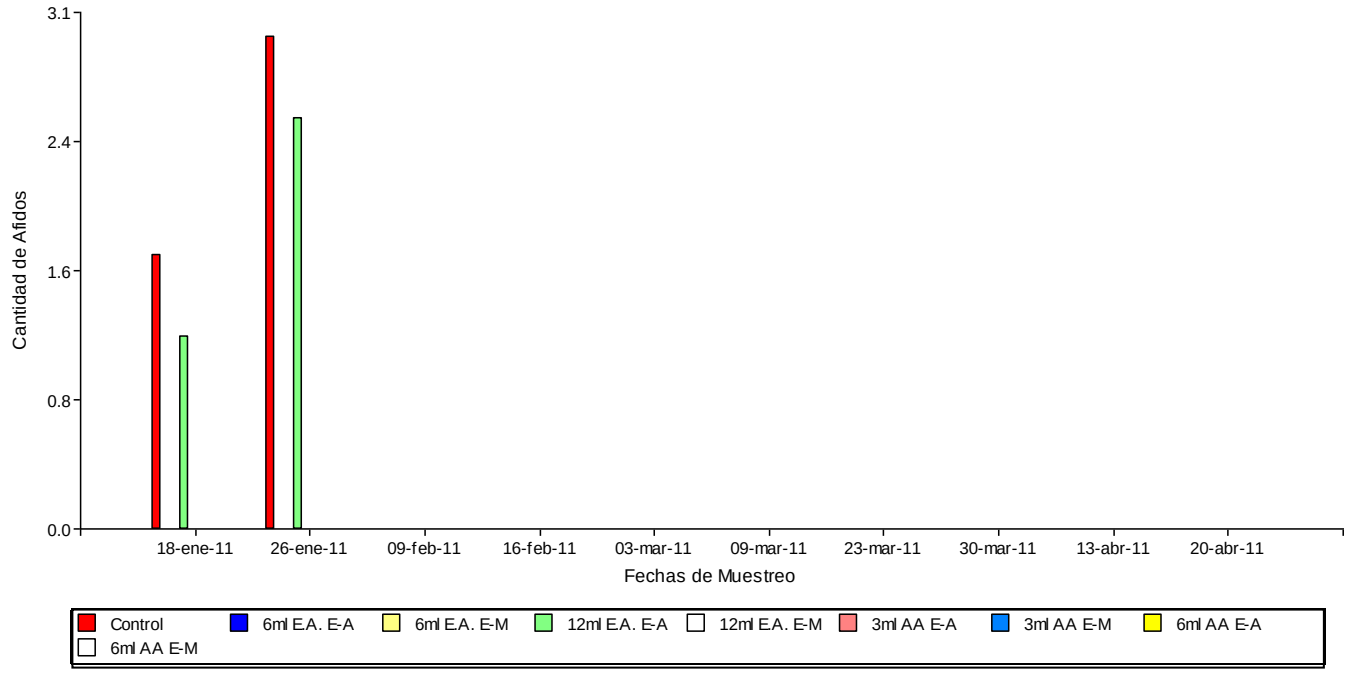

Figura 5. Cambios en el número de áfidos *Toxoptera* spp **por cada 10 hojas de lima 'Tahití' durante 10 semanas en el 2011 sometidas a 9 tratamientos. Los tratamientos fueron: control, extracto de alga aplicado de enero a abril (E.A. E-A); extracto de alga aplicado de enero a marzo (E.A. E-M); aminoácidos aplicados de enero a abril (AA E-A) y aminoácidos aplicados de enero a marzo (AA E-M).**

Por lo general, hay dos picos poblacionales de *Toxoptera* spp por año, una en primavera y otra en otoño. Esto se ha observado en Argentina, Australia (Carver 1978), Brasil (Chagas et al., 1982), Kenia (Seif Islam, 1988), Puerto Rico (Michaud y Browning, 1999), Taiwán (Tao & Tan, 1961) y Japón (Nakao, 1968; Shindo, 1972). Es aparente que los áfidos detectados en enero y febrero en esta investigación fueron remanentes de las poblaciones altas del clima otoñal del 2009. En ese sentido, Komazaki (1982) señaló que para que esta especie exprese su máximo potencial reproductivo y longevidad, la temperatura óptima es 20°C.

Para un mismo tratamiento, no se encontraron diferencias significativas entre el número de áfidos pre- y post-aplicación (Apéndice E). Tampoco hubo relación significativa entre la concentración de clorofila en las hojas y el número de áfidos presentes en las hojas (Apéndice F).

Diaphorina citri. En las evaluaciones de enero a abril de los años 2010 y 2011 no se detectó la plaga en los árboles del experimento. La ausencia de *Diaphorina citri* en el huerto pudiera ser explicada por su tendencia a ser menos abundante en temporadas frescas y secas (Mead y Fasulo, 2011), como fueron los meses en que se evaluó su presencia y abundancia en esta investigación. Este resultado no permitió llegar a ninguna conclusión con respecto al posible efecto de los bioestimulantes en esta plaga en el limón 'Tahití'.

5.3 Floración de los árboles

No hubo efecto significativo de bioestimulantes en el inicio de la floración (Apéndice G). Aproximadamente el 18 de febrero de cada año, estadísticamente había el mismo número de árboles florecidos en todos los tratamientos. Otros estudios como los de Botta y colaboradores (2009) y Marfà y colaboradores (2009) muestran que aplicaciones de formulaciones agrícolas de aminoácidos pueden adelantar la floración en algunos cultivos. Por ejemplo, en estudios conducidos en Puerto Rico, Morales-Payán & Márquez-Méndez (2008a y 2008b) encontraron que plantas de sandía tratadas con bioestimulantes a base de extractos de algas, ácido 3-indolebutirico y kinetina, producían frutos más temprano que plantas no tratadas. Por lo menos en esta investigación, el inicio de la floración del limón 'Tahití' no fue afectado por los tratamientos del extracto de alga y la mezcla de aminoácidos como fueron aplicados.

5.4 Retención de frutos

Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para el porcentaje de retención de frutos hasta dos semanas antes de la cosecha. Estadísticamente, todos los tratamientos de bioestimulantes fueron similares al control (Apéndice H), pero se encontró la tendencia de que a medida que aumentaba la cantidad total de aminoácidos aplicados durante la

temporada, se reducía la retención de frutos. Por ejemplo, el tratamiento de 6 ml de mezcla de aminoácidos por árbol de enero a abril equivale a la dosis cumulativa más alta de aminoácidos en la temporada y tuvo retención de frutos significativamente menor que las dosis de 3 ml de mezcla de aminoácidos de enero a marzo o de enero a abril, que sumaron 0.6 y 0.75 g de aminoácidos por árbol (Cuadro 1, Figura 7). En otras investigaciones (Cerdán et al., 2009) reporta resultados similares en donde dosis relativamente altas de aminoácidos tienen respuesta adversa a funciones como la excesiva adquisición de metales del suelo y su acumulación en cantidades tóxicas en los tejidos vegetales, y/o trastornos en sistemas enzimáticos.

Con los tratamientos de aplicaciones de extracto de alga, la tendencia observada fue de valores más bajos de retención con dosis cumulativas relativamente bajas (aplicaciones 6 ml por árbol de enero a marzo), valores de retención intermedios con dosis altas (12 ml de extracto de alga por árbol de enero a marzo o de enero a abril) y el valor de retención de frutos más alto con la aplicación de la dosis acumulada intermedia (6 ml de extracto de alga por árbol de enero a abril) (Cuadro 1, Figura 7).

En ese sentido, Fornes y colaboradores (2002) encontraron que la magnitud del efecto de aspersiones de *Ascophyllum nodosum* en la retención de fruta de naranja dulce ‘Navelina’ fue dependiente de la dosis aplicada, con 19% de aumento de retención de frutas al aplicarse el bioestimulante en solución acuosa al 0.3%, y con 11% de aumento de retención cuando se aplicó el bioestimulante en solución acuosa al 0.15%.

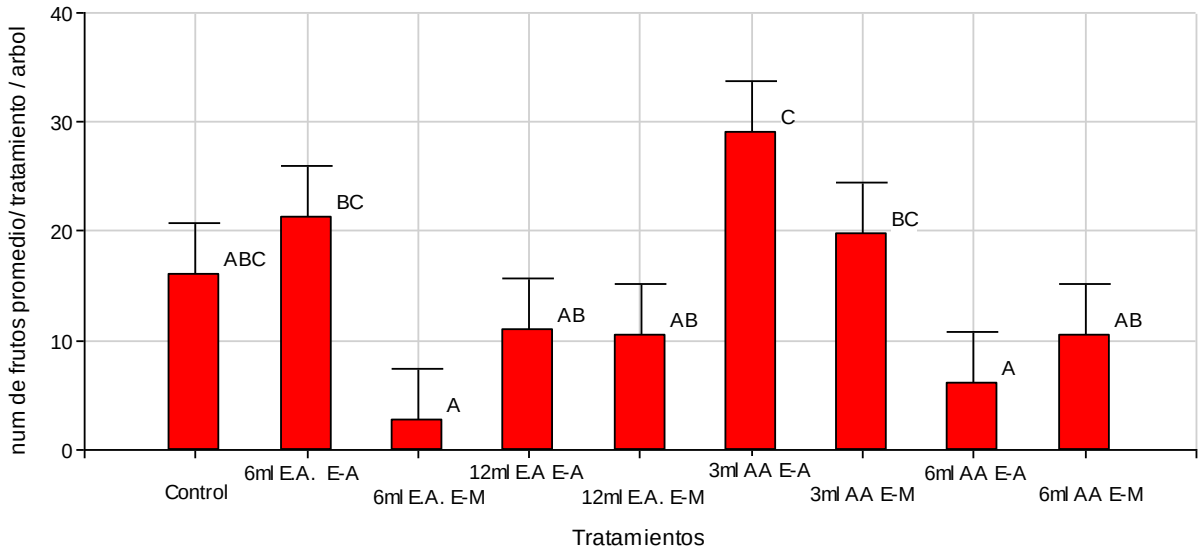

Figura 6. Efecto de bioestimulantes en la retención de frutos en árboles de limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico, 2010. Los tratamientos fueron: control, extracto de alga aplicado de enero a abril (E.A. E-A); extracto de alga aplicado de enero a marzo (E.A. E-M); aminoácidos aplicados de enero a abril (AA E-A) y aminoácidos aplicados de enero a marzo (AA E-M).

5.5 Número y peso de frutos comerciables por árbol

Para peso y número de frutos por árbol, se encontró que hubo diferencia significativa entre los resultados de ambos años de experimentación, por lo que se discuten los resultados de cada año por separado. En el 2010, se determinó que todos los tratamientos de bioestimulantes fueron estadísticamente iguales al control, pero los árboles asperjados de enero a marzo con 6 ml de extracto de alga o con 6 ml de mezcla de aminoácidos por aplicación tuvieron significativamente más frutos comerciables que árboles con los tratamientos con 12 ml por árbol del extracto de alga aplicado de enero a marzo y 6 ml por árbol de enero a abril (Figuras 8 y 9). Ese resultado muestra un patrón similar al observado en la retención de frutos discutida previamente en esta tesis. En el experimento del 2011, el análisis de varianza no detectó

diferencias significativas entre tratamientos con respecto al control (Apéndice I). El resultado del 2011 pudo deberse a que al empezar ese año experimental los árboles tenían menos follaje que en el 2010 y no hubo suficiente masa vegetal inicial, afectando la posibilidad de acción de los bioestimulantes.

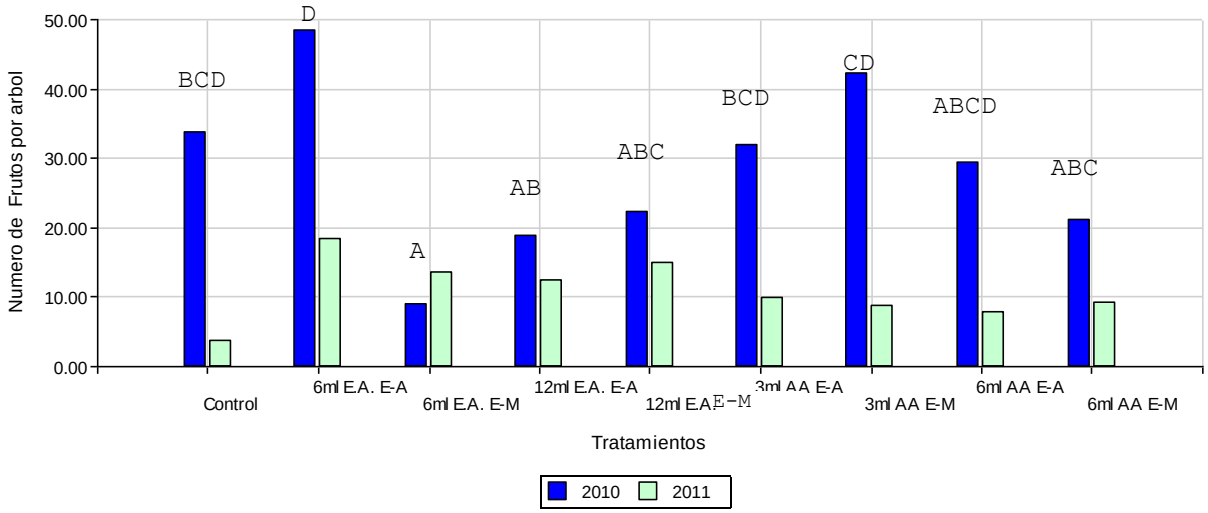

Figura 7. Número de frutos comerciables por árbol de limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico, 2010-2011. Los tratamientos fueron: control, extracto de alga aplicado de enero a abril (E.A. E-A); extracto de alga aplicado de enero a marzo (E.A. E-M); aminoácidos aplicados de enero a abril (AA E-A) y aminoácidos aplicados de enero a marzo (AA E-M). No hubo diferencia significativa entre tratamientos en el 2011 (barras azul claro).

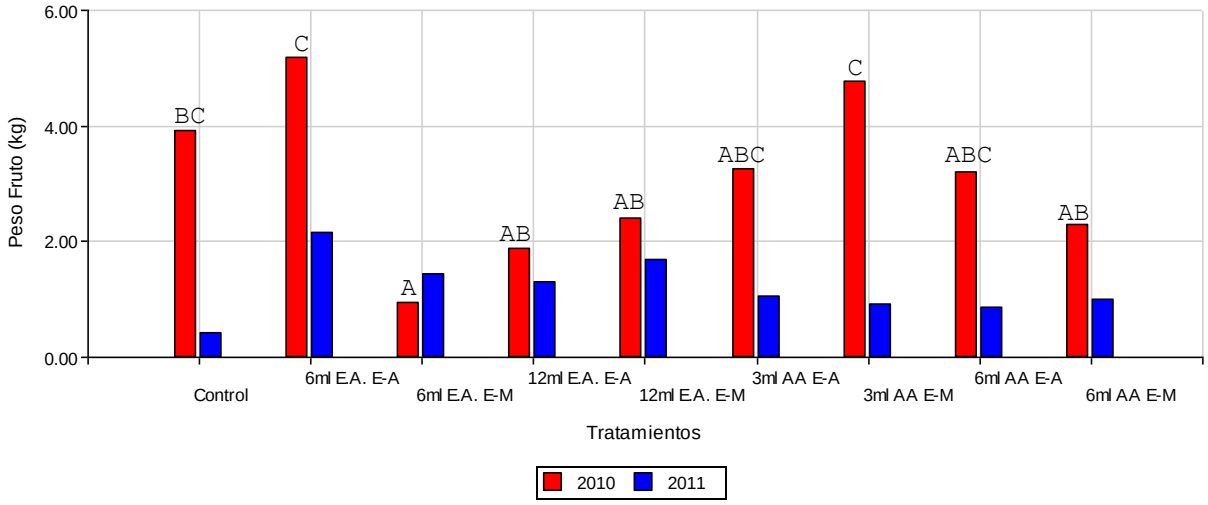

Figura 8. Peso de frutos comerciables de árboles de limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico, 2010-2011. Los tratamientos fueron: control, extracto de alga aplicado de enero a abril (E.A. E-A); extracto de alga aplicado de enero a marzo (E.A. E-M); aminoácidos aplicados de enero a abril (AA E-A) y aminoácidos aplicados de enero a marzo (AA E-M). No hubo diferencia significativa entre tratamiento en el 2011 (barras azules)

Estos resultados son similares a los de otros autores, como por ejemplo Díaz Candelas y colaboradores (2012a), que encontraron que árboles de limón 'Tahití' asperjados con un extracto de *Ascophyllum nodosum* produjeron más flores y tuvieron mayor producción de frutos que árboles control, o Koo y Mayo (1994) que encontraron que árboles de naranja dulce y de toronja asperjados con un extracto de alga durante la floración y formación del fruto produjeron significativamente (10 a 27%) más frutas por árbol.

5.6 Volumen de jugo en la fruta el día de cosecha

Para esta variable se encontraron diferencias significativas de efectos de bioestimulantes en ambos años, con efectos diferentes por año (Apéndice J). En el año 2010 ninguno de los

tratamientos de bioestimulantes superó al control en el volumen de jugo por fruta; los frutos de los árboles con los extracto de alga en dosis de 6ml por árbol por aplicación de enero a abril y extracto de alga en dosis de 12ml por árbol por aplicación de enero a marzo tuvieron menos jugo que los frutos de árboles control, mientras que los frutos de árboles tratados con los aminoácidos en dosis de 3ml por árbol por aplicación de enero a marzo tuvieron significativamente más jugo que los tratamientos de 3ml de aminoácidos aplicados por árbol de enero a abril, 6 ml de aminoácidos aplicados por árbol de enero a abril, 6 ml de extracto de alga por árbol aplicados de enero a marzo, 6 ml de extracto de alga por árbol aplicados de enero a abril y 12 ml de extracto de alga por árbol aplicados de enero a marzo. En Puerto Rico Díaz Candelas y colaboradores (2012a) encontraron que árboles de limón Tahití tratados con un extracto de *Ascophyllum nodosum* tuvieron un porcentaje de jugo mayor que el de limones control, después de cuatro semanas en almacenamiento a 10 °C. En el 2011, los resultados fueron similares a los del 2010, excepto que el aminoácidos en dosis de 3ml por árbol por aplicación de enero a marzo también fue superior al extracto de alga en dosis de 12ml por árbol por aplicación de enero a abril (Figura 10; Apéndice J).

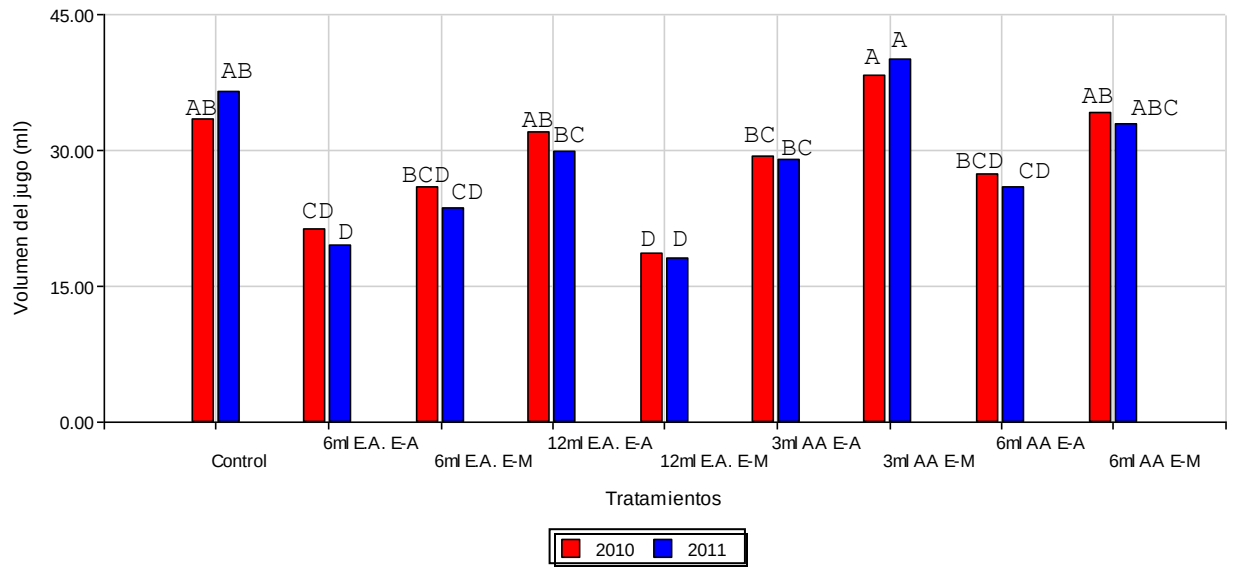

Figura 9. Volumen del jugo de limón 'Tahití' el dia de la cosecha. Los tratamientos fueron: control, extracto de alga aplicado de enero a abril (E.A. E-A); extracto de alga aplicado de enero a marzo (E.A. E-M); aminoácidos aplicados de enero a abril (AA E-A) y aminoácidos aplicados de enero a marzo (AA E-M).

5.7 Concentración de sólidos solubles y pH del jugo de la fruta el día de cosecha

En el año 2010, no hubo diferencia significativa entre tratamientos sobre la concentración de sólidos solubles (Apéndice K). En el año 2011, ninguno de los tratamientos de bioestimulantes tuvo valores de concentración de sólidos solubles más altos que el control, mientras que los extracto de alga en dosis de 6ml por árbol por aplicación de enero a marzo y aminoácidos en dosis de 6ml por árbol por aplicación de enero a marzo resultaron en valores significativamente menores que el control (Apéndice K).

En otras investigaciones se han reportado efectos buenos de bioestimulantes en la concentración de sólidos solubles de frutas. Vega-Almodóvar y colaboradores (2009),

encontraron que al aplicar un extracto de *Ascophyllum nodosum* en piña 'Cabezona', aumentó la concentración de sólidos solubles en el jugo de la piña. También se ha reportado que plantas de pimiento asperjadas con un extracto de *Ascophyllum nodosum* produjeron frutos con mayor contenido de sólidos solubles que plantas control (Eris et al., 1995). Alcañiz y Moncunill (2000), documentaron que la mezcla de aminoácidos y potasio usada en esta investigación pudiera mejorar la absorción y movimiento de potasio en la planta, con mayor concentración de azúcares en el jugo de la fruta.

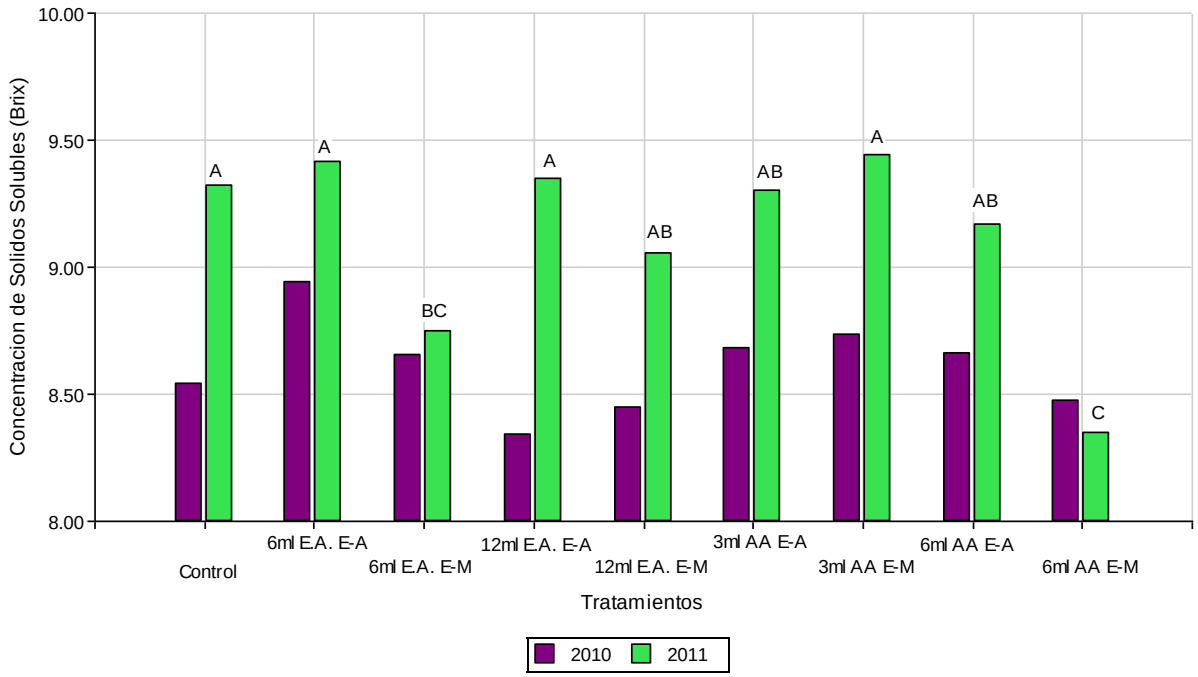

Figura 10. Concentración de Solidos Solubles el dia de la cosecha. Los tratamientos fueron: control, extracto de alga aplicado de enero a abril (E.A. E-A); extracto de alga aplicado de enero a marzo (E.A. E-M); aminoácidos aplicados de enero a abril (AA E-A) y aminoácidos aplicados de enero a marzo (AA E-M).

El pH del jugo el día de cosecha fue afectada significativamente por la aplicación de bioestimulantes, de manera similar en ambos años, siendo los frutos control los de pH significativamente más alto o con jugo menos ácido (Apéndice K). El tratamiento de 6 ml de aminoácidos aplicados por árbol de enero a marzo fue el que tuvo un pH bajo (Figura 11).

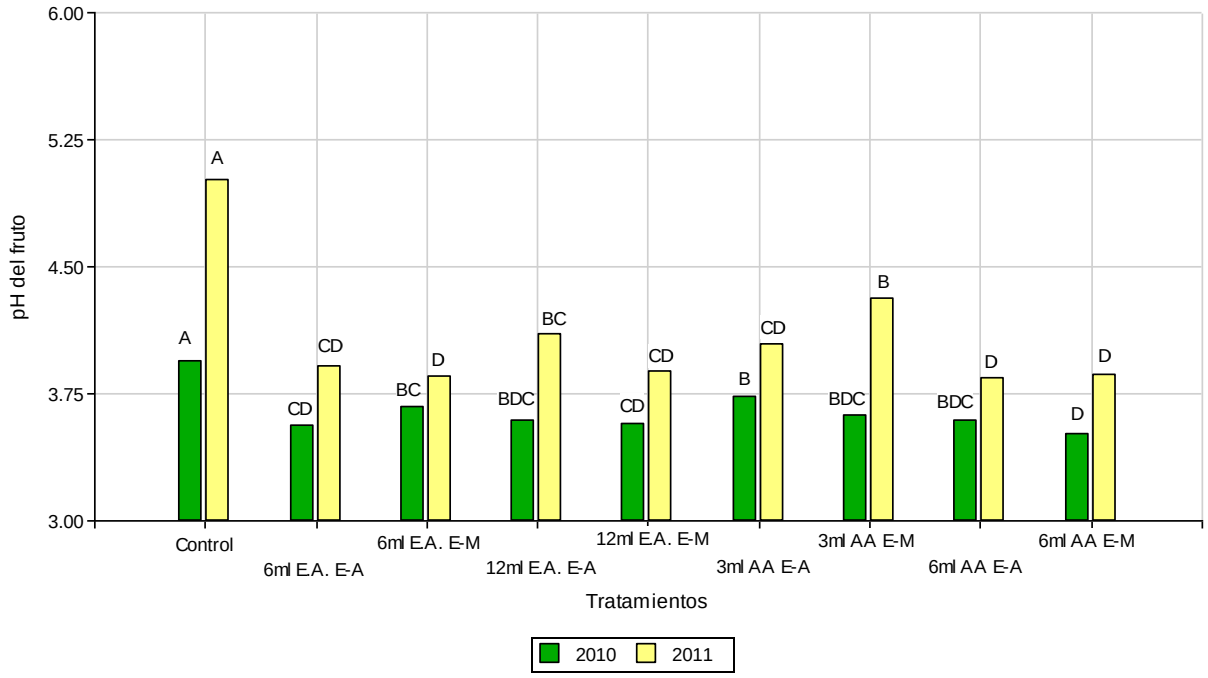

Figura 11. pH del fruto el dia de la cosecha. Los tratamientos fueron: control, extracto de alga aplicado de enero a abril (E.A. E-A); extracto de alga aplicado de enero a marzo (E.A. E-M); aminoácidos aplicados de enero a abril (AA E-A) y aminoácidos aplicados de enero a marzo (AA E-M).

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados de esta investigación indican que los bioestimulantes, respecto al control, no afectaron significativa y favorablemente las variables de clorofila, floración, retención de frutos, peso y número de frutos. Se encontraron en algunos casos efectos significativamente diferentes entre algunos tratamientos de extracto de alga y de aminoácidos +K, o tratamientos en que los valores fueron significativamente menores que el control. Ninguno de los tratamientos de bioestimulantes mejoró significativamente la productividad de frutos o su calidad. Un efecto interesante (si fuera deseable) es que los bioestimulantes redujeron el pH del jugo, haciendo los frutos más ácidos en comparación con los frutos control.

Los efectos de los bioestimulantes en la abundancia de insectos plaga no fue significativa, excepto en el conteo de minas en las hojas próximo a la cosecha de los frutos. En todo caso, las poblaciones de todas las plagas estudiadas fue relativamente baja durante los dos años de estudio y probablemente los resultados no arrojan conclusiones contundentes sobre el posible efecto de los bioestimulantes en estas plagas, aunque si hubo diferencia entre tratamientos con aminoácidos y tratamientos con el extracto de alga, un resultado que debería estudiarse en más detalle en experimentos futuros. Cabe señalar que este es uno de los primeros estudios documentados sobre la relación de bioestimulantes específicos y cuantificación de plagas específicas en cítricas en Puerto Rico, en un esfuerzo por evaluar científicamente las anécdotas sobre efectos de bioestimulantes en la abundancia de plagas en este cultivo. Es posible que otros bioestimulantes u otras dosis o formas de aplicación de los bioestimulantes estudiados en esta tesis puedan ser eficaces como componentes de programas de manejo de ciertas plagas.

Fornes y sus colaboradores (2002) propusieron que una parte importante del efecto de los extractos de alga pudiera estar en la división celular del fruto en formación. Otros factores parecen estar involucrados en la magnitud de la respuesta a los bioestimulantes y es importante realizar estudios que ayuden a comprender mejor los efectos de cada uno de ellos en la respuesta a bioestimulantes. No parecen haber suficientes reportes de investigación con los que se puedan comparar científicamente los efectos de un mismo tratamiento de bioestimulante en diferentes genotipos de cítricas creciendo en regiones con ambiente y manejo. Por ahora Díaz-Candelas y sus colaboradores (2012) y este servidor investigamos el uso de bioestimulantes en el cultivo de limón 'Tahití' en Puerto Rico.

La agricultura local e internacional, en sus variantes orgánica, ecológica y sustentable, puede aprovechar el uso de insumos como los bioestimulantes amigables al ambiente (como extractos de algas, extractos de plantas terrestres y sustancias naturales fácilmente metabolizadas como los aminoácidos) para mejorar la producción agrícola sin afectar la conservación de los recursos naturales para la producción agrícola futura. Es importante continuar estos estudios para determinar cuáles tratamientos de bioestimulantes (productos específicos, dosis, formas de aplicación) resultan eficaces en los cultivos y condiciones de producción de Puerto Rico y otros lugares tropicales.

Las próximas investigaciones en este tema pudieran enfocarse en estudiar el efecto de bioestimulantes en la calidad de la fruta postcosecha. También deben evaluarse otras dosis, aplicaciones, mezclas de ingredientes activos y etapas fisiológicas para la aplicación de los bioestimulantes, así como evaluar la respuesta a bioestimulantes con variaciones en el sistema de manejo del cultivo que puedan influir en la productividad y calidad de las frutas, como por ejemplo la poda, el riego y la fertilización.

7. LITERATURA CITADA

Abdel-Mawgoud, A. M. R., A. S. Tantaway, M. M. Hafez A. M. & H. Habib. 2010. Seaweed extract improves growth, yield and quality of different watermelon hybrids. Journal of Agriculture and Biological Sciences 6:161-168.

Abetz, P. & C. L. Young. 1983. The effect of seaweed sprays derived from *Ascophyllum nodosum* on lettuce and cauliflower crops. Botanica Marina 26:487-492.

(AGRINFOR) Instituto de Investigaciones de Cítricos y otros Frutales. 1999. Principios Básicos de la Citricultura Tropical. MINAG. La Habana, Cuba. 84 páginas.

Agustí, M., V. Almela, M. Juan & M. Aznar. 1996. Efecto del Fengib sobre el cuajado y calidad del fruto en los agrios. Agrícola Vergel 1:184-190.

Alcañiz, E. & I. Moncunill. 2000. Potasio de rápida asimilación. Efecto sobre la producción y la calidad en melocotonero. Horticultura Internacional 8:120-122.

American Heritage Dictionary of the English Language. 2012. Sustainable agriculture. American Heritage Dictionary of the English Language. 5th Edition. Houghton Mifflin Harcourt Publishing Company. New York, NY.

Avilan, L., F. Leal, & D. Bautista. 1992. Manual de fruticultura. Principios y manejo de la producción. Segunda Edición. Editorial América. Caracas, Venezuela. 1467 páginas.

Badgley, C., J. Moghtader, E. Quintero, E. Zakem, M. J. Chappell, K. Aviles-Vázquez, A. Samuelson & I. Perfecto. 2006. Organic agriculture and the global food supply. Renewable Agriculture and Food Systems 22:86–108.

BioIberica. 2012. AminoQuelant-K Low pH. http://www.bioiberica.es/Soluciones_terapeuticas/Nutricion_biodisponible/AminoQuelant_K_low_pH/Estres_vegetal.html. Revisado febrero 27, 2012.

Blunden, G. & P. B. Wildgoose. 1977. The effects of aqueous seaweed extract and kinetin on potato yields. Journal the Science of Food and Agriculture 28:121–125.

Botta A., C. Marin, R. Piñol, L. Ruz, E. Badosa & E. Montesinos. 2009. Study of the Mode of Action of Inicium®, a product developed specifically to overcome transplant stress in strawberry plants. Acta Horticulturae 842:721–724.

Cáceres, S. 2000. The citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and its native parasitoids in Corrientes, Argentina. Proceedings of the International Society of Citriculture 9:834-835.

Carlo, S. 2007. Agricultura orgánica en Puerto Rico: Sinopsis de los mercados, consumidores y agricultores. Resúmenes de la Sociedad Puertorriqueña de Ciencias Agrícolas (SOPCA) 33:14.

Cañizares, A. & E. Rojas. 2001. Efecto de la cianamida de hidrógeno y el ácido 2-cloroetilfosfónico sobre la foliación, floración y fructificación de la lima 'Tahití'. Bioagro 13:10-14.

Carver, M. 1978. The black citrus aphids, *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy) and *T. aurantii* (Boyer de Fonscolombe) (Homoptera: Aphididae). J. Australian Entomological Society 17: 263-270.

CDMS Agro-chemical database. 2012. Stimplex label. http://www.cdms.net/LabelsMsds/LMDefault.aspx?manuf=254&t=1,2,3,4. Revisado agosto 20, 2012.

(CEI-RD) Centro de Exportación e Inversión de la República Dominicana. 2012. Reportes estadísticos: Limón. http://www.cei-rd.gov.do/ceird/reportes.aspx. Revisado agosto 1, 2012.

(CEI-RD) Centro de Exportación e Inversión de la República Dominicana. 2011. Perfil Económico de productos orgánicos en la República Dominicana. CEI-RD, Santo Domingo. 30 páginas.

Cerdán, M., A. Sánchez-Sánchez, M. Oliver, M. Juárez, & J. J. Sánchez-Andreu. 2009. Effect of foliar and root applications of amino acids on iron uptake by tomato plants. Acta Horticulturae 830:481-488.

Chagas, E. F. D., S. S. Neto, A. J. B. P. Braz, C. P. B. Mateus, & I. P. Coelho. 1982. Population fluctuations of pest and predator insects in citrus. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 17: 817-824.

Colavita, G. M., N. Spera, N., V. Blackhall, & G. M. Sepulveda. 2011. Effect of seaweed extract on pear fruit quality and yield. Acta Horticulturae 909:601-607

Cruz, M., D. L. Siqueira, L. C. Salomao, & P. R. Cecon. 2008. Influence of paclobutrazol and of the environment temperature on flowering and fructification of acid lime 'Tahiti'. Ciênc. Agrotec. 32:1148-1153.

Davenport, T. L. 1986. Flowering of 'Tahiti' lime. Citrus flowering, fruit set and development (Short course). Fruit Crops Dept., IFAS, University of Florida, Gainesville. Pages 41-45.

Delgado, R. R., R. Rodriguez & R. Casamayor. 1995. Empleo de paclobutrazol em plantas de lima persa sobre naranjo trifoliado 'Rubdoux' a altas densidades. Agrícola Vergel 70:121-125.

Departamento de Agricultura de Puerto Rico. 2012. Ingreso Bruto Agrícola 2009-2010. Estadísticas Agrícolas. http://www.gobierno.pr/DA/Estadísticas. Revisado abril 1, 2012.

Diaz-Candelas, C. C., J. P. Morales-Payan, Rodolfo Romañach, Sonia M. Garrastazu & Duane Kolterman. 2012a. Effects of exogenous bioregulators on fruit and essential oil yield of organic

Persian lime (*Citrus latifolia* Tanaka). Proceedings of the Plant Growth Regulation Society of America 39: In press.

Diaz-Candelas, C., J. P. Morales-Payan & R. Romañach. 2012b. Tahiti lime post-harvest evaluation and non-destructive assessment of essential oils by NIR spectroscopy. International Citrus Congress. November 2012, Valencia, Spain. Abstract Book page 137.

Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. Balzanari, L. González, M. Tablada & C. W. Robledo. 2009. INFOSTAT, Software Estadístico. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

Eris, A., H. Sivritepe &. N. Sivritepe. 1995. The effect of seaweed (*Ascophyllum nodosum*) extract on yield and quality criteria in peppers. Acta Horticulturae 412:185-192.

Farouk, S., S. A. Youssef & A. A. Ali. 2002. Exploitation of biostimulatants and vitamins as an alternative strategy to control early blight of tomato plants. Asian Journal of Plant Sciences 11:36-43.

Featonby-Smith, B. C., & J. C. Staden. 1983. The effect of seaweed concentrate on the growth of tomato plants in nematode-infested soil. Scientia Horticulturae 20:137-146.

Flores-Torres, C., J. P. Morales-Payan, L. Flores, R. Velez, A. Segarra, & B. Brunner. 2010. Fruit retention in 'Butler' avocado in Lajas as affected by a biostimulant. Abstr. Society for Agricultural Sciences of Puerto Rico (SOPCA) 36:32.

Fornes, F., M. Sanchez-Perales, & J. L. Guardiola. 1995. Effect of a seaweed extract on citrus fruit maturation. Acta Horticulturae 379:75-82.

Fornes, F., M. Sanchez-Perales & J. L. Guardiola. 2002. Effect of a seaweed extract on the productivity of 'de Nules' clementine mandarine and 'Navelina'orange. Botanica Marina 45:486-489.

Fuentes Fuster, J. L. 2012. Efectos de bioestimulantes y coberturas de suelo en el rendimiento de sandía y supresión de malezas en un sistema con manejo orgánico. Tesis de Maestría en Ciencias, Programa de Horticultura. Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez. 83 páginas.

Hamm, U., F. Gronefeld & D. Halpin. 2002. Analysis of the European market for organic food. University of Wales Press, Aberystwyth, United Kingdom. 157 pages.

Hankins, S. D. & H. P. Hockey. 1990. The effect of a liquid seaweed extract from *Ascophyllum nodosum* (Fucales, Phaeophyta) on the two-spotted red spider mite *Tetranychus urticae*. Proceedings of the International Seaweed Symposium 13: 555-559.

Hoy, M. A., R. Singh & M. E. Rogers. 2007. Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae), and natural enemy dynamics in central Florida during 2005. Florida Entomologist 90:358-369

Huang, M. D. & S. X. Li. 1989. The damage and economic threshold of *Citrus* leaf miner, *Phyllocnistis citrella* Stainton to *Citrus.* Studies on the integrated management of Citrus insect pests. Guangdong Entomological Institute, China. Páginas 84-89.

(ITC) International Trade Center. 2011a. Fruit Juices Market News Service. December 2011. 21 pages.

(ITC) International Trade Center. 2011b. Fruit Juices Market News Service. March 2011. 22 pages.

(ITC) International Trade Center. 2009. Organic Products Market News Service. December 2009. 39 pages.

Jayaraj, J., A. Wan, M. Rahman & Z. K. Punja. 2008. Seaweed extract reduces foliar fungal diseases on carrot. Crop Protection 10:1360-1366.

Khan, W, U. Rayirath, S. Subramanian, M. N. Jithesh, P. Rayorath, D. M. Hodges, A. T. Critchley, J. S. Craigie, J. Norrie & B. Prithiviraj. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. Journal of Plant Growth Regulation 28:386-399.

Komazaki, S. 1982. Effects of constant temperatures on population growth of three aphid species, *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy), *Aphis citricola* van der Goot and *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) on citrus. Appl. Entomol. Zool. 17: 75-81.

Koo, R. C. J. & S. Mayo. 1994. Effects of seaweed sprays on citrus fruit production. Proc. Florida State Horticulture Society. 101:26-28.

Krezdorn, A.H. s.f. Flowering and fruit Set of Citrus. Consultado el 14 Julio del 2003 Disponible en línea en: http/www. Fcprac.ifas.ufl.edu Revisado enero 20, 2013

Liu, P. 2003. World markets for organic citrus and citrus juices- Current market situation and medium-term prospects. FAO, Rome, Italy. 26 pages.

Loh, F. C., J. C. Grabosky, & N. L. Bassuk. 2002. Using the SPAD 502 meter to assess chlorophyll and nitrogen content of benjamin fig and cottonwood leaves. HortTechnology 12:682-686.

Lopes de Siqueira, D. & L. C. Chamhum Saloamo. 2002. Efeitos do pablobutrazol no crecimiento e florescimento dos citros. LARANJA (Cordeirópolis, Brasil): 23:355-369.

Mancilla, G. M. 2000. Evaluación de cuatro programas de bioestimulantes (Crop Plus, Auxym + Retsul, Naturbox Algium, y Frutaliv) y su efecto en rendimiento y tamaño final de kiwis (*Actinidia deliciosa* A. Chev. cv. Hayward). Tesis para optar por el grado de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de las Américas. Santiago, Chile. 75 páginas.

Marfà, O., R. Cáceres, J. Polo, & J. Ródenas. 2009. Animal protein hydrolysate as a biostimulant for transplanted strawberry plants subjected to cold stress. Acta Horticulturae 842:315–318.

Martínez, C. 2003. Perfil del consumidor de alimentos orgánicos de Puerto Rico, 2003; Un estudio exploratorio. Tesis M.S, Universidad de Puerto Rico, Mayagüez, P.R

Mazih, A. & M. S. Chitoukli. 2000. Studies of annual population dynamics and damage caused by the citrus leafminer in the Souss area of Morocco. Proc. of the International Society of Critriculture 9:839-843.

Mead, F. W., & T. R. Fasulo. 2011. Asian citrus psyllid. Featured Creatures Series. University of Florida FDACS/DPI Entomology Circular 180 (1998) and updated in 2011 as EENY-33. http://entnemdept.ufl.edu/creatures/citrus/acpsyllid.htm. Revisado febrero 27, 2013.

Michaud, J. P. & H. W. Browning. 1999. Seasonal abundance of the brown citrus aphid, Toxoptera citricida (Homoptera: Aphididae) and its natural enemies in Puerto Rico. Florida Entomologist 82:424-447.

Morales-Payan, J. P. 2011. Accelerating growth in custard apple (*Annona reticulata*) in nursery with an organic biostimulant. Abstr. Society for Agricultural Sciences of Puerto Rico (SOPCA) 37:30.

Morales-Payan, J. P. 2010. Enhancing growth of mango in nursery using selected bioregulators. Proceedings of the Caribbean Food Crops Society 46:189-191.

Morales-Payan, J. P. 2009. Organic fruits in Puerto Rico: A 2009 survey for consumer interest and preferences. Caribbean Food Crops Society Abstracts 45:55.

Morales-Payan, J. P. 2008. Using a commercial mixture of amino acids and a commercial extract of *Ascophyllum* kelp to reduce the time in nursery of 'Duncan' and 'Marsh' grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) in Puerto Rico. Proceedings of the Caribbean Food Crops Society 44:355-356.

Morales-Payan, J. P., & P. Marquez-Mendez. 2008a. Promoting early yield in watermelon with extracts of kelp. Abstr. Plant Growth Regulation Society of America 35rd Annual Meeting. San Francisco, California (August 2-6, 2008) 35:1.

Morales-Payan, J. P., & P. Marquez-Mendez. 2008b. Increasing watermelon yield with 3-indolebutyric acid + kinetin and an extract of kelp (*Ascophyllum nodosum*). Abstr. Plant Growth Regulation Society of America 35rd Annual Meeting. San Francisco, California (August 2-6, 2008) 35:2.

Morales-Payan, J. P. & S. Morales-Cotto. 2008. A 2007 Survey of ecological growers in Puerto Rico: Situation, challenges, and obstacles. HortScience 43:1259.

Morales-Payan, J. P. & W. M. Stall. 2003. Density and time of emergence of purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) effects on bell pepper (*Capsicum annuum* L.). Proceedings of the Florida State Hort. Soc. 116:75-77.

Morales-Payan, J. P. 2007. Aceleración del crecimiento de guayaba en vivero con un extracto de alga marina (*Ascophyllum nodosum*) aplicado al suelo. Abstr. Third Biannual Congress of the Dominican Society of Agriculture and Forestry Researchers (SODIAF) 3:8.

Morales-Payan, J. P., P. Marquez Mendez, & S. Martinez Garrastazu. 2007. 'Smooth Cayenne' pineapple fruit and crown size as affected by application of chlorflurenol, kinetine, and a seaweed (*Ascophyllum nodosum*) extract. Abstr. Society for Agricultural Sciences of Puerto Rico (SOPCA) 33:27.

Morales-Payan, J. P. 2006. Satsuma mandarin yield in response to selected biostimulants in a tropical lowland region. Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture 50:97-98.

Morin, L .C. 1983. Cultivo de Cítricos. Segunda edición. IICA. San José, Costa Rica. p.87-101.

Nakao, S. 1968. Ecological studies on the insect community of citrus groves IV. A list of insects collected in a citrus grove near Fukuoka City. Kontyû: 30: 50-71.

(NIFA) National Institute of Food and Agriculture. 2012. Legal Definition of Sustainable Agriculture http://www.csrees.usda.gov/nea/ag_systems/in_focus/sustain_ag_if_legal.html. Revisado agosto 30, 2012.

(NRCS) Natural Resources Conservation Service. 2012. Web Soil Survey. http://websoilsurvey.nrcs.usda.gov/app/WebSoilSurvey.aspx. Revisado Agosto 17, 2012.

Norrie, J. & D. A. Hiltz. 1999. Seaweed extract research and applications in agriculture. Agrofood Industry Hi-Technology 10:15–18.

(OMRI) Organic Materials Review Institute. 2012. Products list: seaweed. http://www.omri.org/simple-opl-search/results/sea%20weed. Revisado junio 26, 2012.

Olivera, V. & J. P. Morales-Payan. 2011. Effects of photosynthetically active radiation and soil application of an organic biostimulant on grafted avocado seedlings grown for transplants. Abstr. Society for Agricultural Sciences of Puerto Rico (SOPCA) 37:49.

Pérez-Gutiérrez, A., A. García-Vázquez, J. M. Tun-Suárez, J. Cristóbal-Alejo, R.G. Rosado-Lugo, & S. A. Curti-Díaz. 2007. Producción forzada de limón persa (*Citrus latofolia* Tan.) en Yucatán. XI Symposium Internacional de Citricultura. (http://www.concitver.com/XI%20simposium/MEMORIAS/12%20Alfonzo%20Perez_TEC%20CONKAL_MEXICO/SIMPOSIUM_INTERNACIONAL.pdf) Revisado enero 12, 2012

Rodríguez, G., & M. Cermeli. 1997. El minador de la hoja, nueva plaga de los cítricos en Venezuela. FONAIAP Divulga 58:20-24.

Rojas, E. 1998. Floral response of Tahiti lime (*Citrus latifolia* Tan.) to foliar sprays of hydrogen cyanamide. Fruits 53:35-40.

Saavedra Torres, M. E. 2009. Fertilización foliar aminoacídica usando plantas de lechuga (*Lactuca Sativa* L. Var. Milanesa) como planta indicadora. Memoria Presentada a la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Chillán, Chile. 28 páginas.

Sánchez, J., M. Cermeli, & P. Morales. 2007. Ciclo biológico del minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en naranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Entomotropica 17:2

Serciloto, C. M., P. R. Castro, R. V. Ribeiro, S. Tavares, C. L. Medina, & E. C. Machado. 2003. Biorreguladares na fixação dos frutos da lima ácida 'Tahiti'.Laranja (Cordeirópolis, Brasil) 24:383-395.

Seif, A. A., & A. S. Islam. 1988. Population densities and spatial distribution patterns of Toxoptera citricida (Kirk.) (Aphididae) in Citrus at Kenya coast. Insect. Sci. Appl. 9: 535-538.

Shindo, M. 1972. Relation between ants and aphids in a citrus orchard. Proc. Assoc. Plant Protection of Kyushu 18: 69-71.

Spann, T. & H. A. Little. 2011. Applications of a commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* increases drought tolerance in container-grown 'Hamlin' sweet orange nursery trees. HortScience 46:577-582.

Spósito, M. B. 1999. Fixação de frutos de limeira ácida 'Tahiti', sua relação com o acúmulo de graus-dia e a aplicação de ácido giberélico. 1999. 67p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba. Brasil.

Sugiyama, K. & S. Kuraishi. 1989. Stimulation of fruit set of 'Morita' navel orange with brassinolide. Acta Horticulturae 239:345-348.

Tanaka, M.T., E Sengik, H. da Silva Santos, C. Habel, C. A. Scapim, L. Silvério, M. V. Kvitschal, & I. C. Arquez. 2003. Efeito da aplicação foliar de biofertilizantes, bioestimulantes e micronutrientes na cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculetum* Mill.). Acta Scientiarum-Agronomy 25: 315-321.

Tao, C. C., & M. F. Tan. 1961. Identification, seasonal population and chemical control of citrus aphids in Taiwan. Agric. Res. 10:41-52.

Terán, G. & L. E. Rocha-Villegas. 2011. Evaluación de cinco fuentes de aminoácidos de origen vegetal en el cultivo de lechuga *Lactuca Sativa* L. de la variedad Green Salad Bowl. Tesis para optar por el grado de Ingeniero Agropecuario. Universidad Técnica del Norte. Ibarra, Ecuador.

(USDA-ERS) United States Department of Agriculture, Economic Research Service. 2012. Organic Production. http://www.ers.usda.gov/data-products/organic-production.aspx. Revisado enero 9, 2012.

(USDA) United States Department of Agriculture. 2011. National Organic Program (NOP). http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop Revisado enero 1 2011.

(USDA) United States Department of Agriculture. 2010. National Organic Program (NOP). http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop Revisado enero 1 2010.

(USDA) United States Department of Agriculture. 2006. United States Standards for Grades of Tahiti (Persian) limes. 7 pages.

Vega-Almodovar, M, J. P. Morales-Payan, S. Martínez Garrastazu, L. Flores, & J. Toro. 2009. Fruit attributes of 'Cabezona' pineapple as affected by applications of an *Ascophyllum nodosum* extract. Proc. Plant Growth Regulation Society of America 36:150-152.

Whapman, C. A, G. Blunden, T. Jenkins, & S. D Hankins. 1993. Significance of betains in the increased chlorophyll content of plants treated with seaweed extract. J. App. Phycol. 5:231–234.

Willer, H. & L. K. Lukas. 2012. The World of Organic Agriculture: Statistics and Emerging Trends 2012. Research Institute of Organic Agriculture (FiBL), Frick, Switzerland, and International Federation of Organic Agriculture Movements (IFOAM), Bonn, Germany. 336 pages.

8. APÉNDICES

Apéndice A. Análisis del suelo utilizado para los experimentos en la Estación Experimental en Lajas, Puerto Rico.

LABORATORIO CENTRAL ANALÍTICO

Estación Experimental Agrícola•Recinto Universitario de Mayaguez•Universidad de Puerto Rico
1193 Calle Guayacán, Jardín Botánico Sur, San Juan, Puerto Rico 00926-1118
(787) 767-9705, ext. 2134, 2136 Fax (787)753-2712 • laboratorio.central@upr.edu

Num. Solicitud L-10- 066

INFORME DE RESULTADOS

Servicio solicitado por:

Nombre Jose P Morales Payan
Dirección Dept. de Cultivos y Cs Agroambiental
Teléfono 787 265 3852
Compañía RUM
Ciudad, País Mayagüez, PR Zip code 00680
Email morales.payan@upr.edu

Fecha de Informe 9/20/10
Analista E. Rivera
Analista N. Corchado
Analista P. Casanova
Revisor Y. Ocasio

ANALISIS DE SUELO

Directora LCA Julia M. O'Hallorans
Dra. Julia O'Hallorans

Num. LCA	Identificación	Al	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	N	Na	Ni	P	Pb	Zn
		Totales, %														
S-10-920	CL1										0.15					
S-10-921	CL2										0.15					
S-10-922	CL3										0.16					

LABORATORIO CENTRAL ANALÍTICO

Estación Experimental Agrícola•Recinto Universitario de Mayaguez•Universidad de Puerto Rico
1193 Calle Guayacán, Jardín Botánico Sur, San Juan, Puerto Rico 00926-1118
(787) 767-9705, ext. 2134, 2136 Fax (787)753-2712 • laboratorio.central@upr.edu

Num. Solicitud L-10- 066

INFORME DE RESULTADOS

Servicio solicitado por:

Nombre José P Morales Payán
Dirección Dept. de Cultivos y Cs Agroambiental
Teléfono 787-265-3852
Compañía RUM
Ciudad, País Mayaguez, PR Zip code 00680
Email morales.payán@upr.edu

Fecha de Informe 9/20/10
Analista E.Rivera
Analista N.Corchado
Analista P. Casanova
Revisor Y. Ocasio

ANALISIS DE SUELO

Directora LCA Julia M. O'Hallorans
Dra. Julia O'Hallorans

Num. LCA	Identificación	$Al_{Int.}$	CICE	SO4	B_{total}	Textura, %			Requisito Cal	Cd	Cu	Ni	Zn
		ppm	meq/100g	ppm	ppm	Arena	Limo	Arcilla	ton CaCO3/acre	Extraibles HCl, ppm			
S-10-920	CL1	*	37										
S-10-921	CL2	*	35										
S-10-922	CL3	*	27										

sta disponible en suelos con pH mayor de 5.5.

Apéndice B. Temperatura (^{o}C) y precipitación mensual 2010 y 2011, Estación Experimental en Lajas, Puerto Rico.

Mes	Temperatura Promedio (^{o}C) 2010	Temperatura promedio (^{o}C) 2011	Precipitación 2010	Precipitación 2011
*Enero	31.6	31.5	1.23	0.41
*Febrero	31.4	31.6	2.32	0.96
*Marzo	31.8	31.1	1.67	1.98
*Abril	32.0	31.1	2.52	5.66

* Meses en los cuales transcurrió el experimento de enero a abril 2010 y el experimento de enero a abril 2011

Apéndice C. Análisis de varianza de concentración promedio de clorofila durante la temporada en hojas de limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico, en 2010 y 2011.

Epoca	Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
2010	Clorofila	54	0.29	0.06	7.62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	192.05	13	14.77	1.28	0.2647
Bloque	83.99	5	16.80	1.46	0.2259
Trat.	108.06	8	13.51	1.17	0.3406
Error	461.69	40	11.54		
Total	653.74	53			

Epoca	Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
2011	Clorofila	54	0.41	0.21	6.41

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	230.68	13	17.74	2.10	0.0362
Bloque	140.82	5	28.16	3.34	0.0130
Trat.	89.86	8	11.23	1.33	0.2569
Error	337.73	40	8.44		
Total	568.42	53			

Apéndice D. Análisis de varianza de diferencia en la abundancia de minadores y áfidos en limón 'Tahití' en pre- y post-aplicación de bioestimulantes en Lajas, Puerto Rico, 2010 y 2011.

Análisis de la varianza (2010)

Variable	Variable	N	R²	R² Aj	CV
difafido	Media	54	0.27	0.03	424.24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	102.70	13	7.90	1.12	0.3737
bloque	50.70	5	10.14	1.43	0.2332
trat	52.00	8	6.50	0.92	0.5111
Error	282.89	40	7.07		
Total	385.59	53			

Variable	Variable	N	R²	R² Aj	CV
difminador	Media	54	0.33	0.11	47.77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	16.92	13	1.30	1.50	0.1603
bloque	7.56	5	1.51	1.74	0.1470
trat	9.35	8	1.17	1.35	0.2495
Error	34.72	40	0.87		
Total	51.64	53			

Análisis de la varianza (2011)

Variable	N	R²	R² Aj	CV
difafido_Media	54	0.33	0.11	364.15

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2.42	13	0.19	1.51	0.1546
bloque	0.55	5	0.11	0.89	0.4959
trat	1.87	8	0.23	1.90	0.0864
Error	4.92	40	0.12		
Total	7.34	53			

Variable	N	R²	R² Aj	CV
difminador_Media	54	0.31	0.09	84.98

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4.75	13	0.37	1.40	0.2022
bloque	2.90	5	0.58	2.22	0.0707
trat	1.85	8	0.23	0.88	0.5377
Error	10.43	40	0.26		
Total	15.18	53			

Apéndice E. Análisis de varianza de abundancia de minadores y áfidos en limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico, 2010 y 2011.

2010

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
PRE_minador	247	0.10	0.05	80.48

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	196.89	13	15.15	1.95	0.0261
bloque	96.38	5	19.28	2.48	0.0328
trat	100.50	8	12.56	1.61	0.1213
Error	1812.57	233	7.78		
Total	2009.46	246			

Variable	N	R²	R² Aj	CV
POST_minador	247	0.09	0.04	59.78

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	230.03	13	17.69	1.70	0.0618
bloque	135.16	5	27.03	2.60	0.0262
trat	94.86	8	11.86	1.14	0.3377
Error	2425.09	233	10.41		
Total	2655.12	246			

Variable	N	R²	R² Aj	CV
PRE_afido	247	0.06	0.01	1567.21

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4.69	13	0.36	1.11	0.3539
bloque	1.65	5	0.33	1.01	0.4121
trat	3.04	8	0.38	1.17	0.3200
Error	75.98	233	0.33		
Total	80.67	246			

Variable	N	R²	R² Aj	CV
POST_afido	247	0.08	0.03	724.62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	407.11	13	31.32	1.64	0.0757
bloque	171.95	5	34.39	1.80	0.1137
trat	235.17	8	29.40	1.54	0.1448
Error	4452.00	233	19.11		
Total	4859.12	246			

2011

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
PRE_afido	247	0.05	0.00	798.47

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	15.19	13	1.17	0.86	0.5930
bloque	4.29	5	0.86	0.63	0.6740
trat	10.90	8	1.36	1.01	0.4321
Error	315.56	233	1.35		
Total	330.75	246			

Variable	N	R²	R² Aj	CV
POST_afido	247	0.04	0.00	679.99

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	29.62	13	2.28	0.78	0.6787
bloque	11.42	5	2.28	0.78	0.5619
trat	18.20	8	2.27	0.78	0.6200
Error	678.81	233	2.91		
Total	708.44	246			

Cantidad de minadores en 10 hojas a los 70 días de la primera aplicación de bioestimulantes

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Minador	30	0.71	0.57	60.32

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	45.83	9	5.09	5.35	0.0009
Bloque	30.94	5	6.19	6.51	0.0010
TRAT	14.88	4	3.72	3.91	0.0166
Error	19.02	20	0.95		
Total	64.84	29			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1.17435

Error: 0.9508 gl: 20

TRAT	Medias	n	E.E.		
3ml AA	0.92	6	0.40	A	
6ml AA	0.92	6	0.40	A	
Control	1.67	6	0.40	A	B
12ml EA	1.75	6	0.40	A	B
6ml EA	2.83	6	0.40		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Apéndice F. Análisis de regresión lineal de abundancia de minadores y áfidos con respecto a la concentración de clorofila en hojas de limón 'Tahití'. Lajas, Puerto Rico, 2010 y 2011.

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R^2	R^2 Aj	ECMP	AIC	BIC
Minador	18	0.16	0.10	0.73	45.86	48.53

Coeficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	11.31	5.75	-0.88	23.50	1.97	0.0667	
Clorofila	-0.22	0.13	-0.49	0.05	-1.73	0.1033	3.87

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.80	1	1.80	2.98	0.1033
Clorofila	1.80	1	1.80	2.98	0.1033
Error	9.65	16	0.60		
Total	11.45	17			

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.80	1	1.80	2.98	0.1033
Clorofila	1.80	1	1.80	2.98	0.1033
Error	9.65	16	0.60		
Total	11.45	17			

Matriz de covarianzas de los coef. de regresión

	beta[0]	beta[1]
beta[0]	33.06	-0.74
beta[1]	-0.74	0.02

Variable	N	R^2	R^2 Aj	ECMP	AIC	BIC
Afidos	18	0.15	0.10	0.05	-1.74	0.94

Coeficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	2.70	1.53	-0.55	5.95	1.76	0.0973	
Clorfila	-0.06	0.03	-0.13	0.02	-1.68	0.1125	3.71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.12	1	0.12	2.82	0.1125
Clorfila	0.12	1	0.12	2.82	0.1125
Error	0.69	16	0.04		
Total	0.81	17			

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.12	1	0.12	2.82	0.1125
Clorfila	0.12	1	0.12	2.82	0.1125
Error	0.69	16	0.04		
Total	0.81	17			

Matriz de covarianzas de los coef. de regresión

	beta[0]	beta[1]
beta[0]	2.35	-0.05
beta[1]	-0.05	1.2E-0

Apéndice G. Análisis de varianza de cantidad de árboles de limón 'Tahití' en floración en el mes de febrero en Lajas, Puerto Rico. 2010.

Análisis de la varianza de floración de árboles en febrero.

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Florecido	30	0.32	0.02	58.31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4.78	9	0.53	1.05	0.4349
Bloque	2.14	5	0.43	0.85	0.5302
TRAT	2.63	4	0.66	1.31	0.3009
Error	10.07	20	0.50		
Total	14.84	29			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.85442

Error: 0.5033 gl: 20

TRAT	Medias	n	E.E.	
6ml EA	0.67	6	0.29	A
6ml AA	1.17	6	0.29	A
Control	1.33	6	0.29	A
12ml EA	1.42	6	0.29	A
3ml AA	1.50	6	0.29	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Apéndice H. Análisis de varianza de retención de frutos de limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico. 2010.

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
num de frutos ret	54	0.56	0.41	82.36

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6764.85	13	520.37	3.87	0.0005
trat	3244.70	8	405.59	3.02	0.0095
bloque	3520.15	5	704.03	5.24	0.0009
Error	5374.85	40	134.37		
Total	12139.70	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=13.52618

Error: 134.3713 gl: 40

trat	Medias	n	E.E.			
3	2.67	6	4.73	A		
8	6.00	6	4.73	A		
9	10.50	6	4.73	A	B	
5	10.50	6	4.73	A	B	
4	11.00	6	4.73	A	B	
1	16.00	6	4.73	A	B	C
7	19.67	6	4.73		B	C
2	21.33	6	4.73		B	C
6	29.00	6	4.73			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Apéndice I. Análisis de varianza de número y peso de frutas mercadeables de limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico. 2010 y 2011.

Año	Variable	N	R²	R² Aj	CV
2010	# Frutas	54	0.63	0.51	68.17

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	25283.57	13	1944.89	5.17	<0.0001
Bloque	18204.31	5	3640.86	9.67	<0.0001
Trat.	7079.26	8	884.91	2.35	0.0356
Error	15059.85	40	376.50		
Total	40343.43	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=22.64134

Error: 376.4963 gl: 40

Trat.	Medias	n	E.E.				
3	9.00	6	7.92	A			
4	19.00	6	7.92	A	B		
9	21.00	6	7.92	A	B	C	
5	22.17	6	7.92	A	B	C	
8	29.33	6	7.92	A	B	C	D
6	31.67	6	7.92		B	C	D
1	33.67	6	7.92		B	C	D
7	42.00	6	7.92			C	D
2	48.33	6	7.92				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Año	Variable	N	R²	R² Aj	CV
2010	Peso (kg.)	54	0.65	0.54	65.79

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	305.33	13	23.49	5.70	<0.0001
Bloque	214.90	5	42.98	10.44	<0.0001
Trat.	90.43	8	11.30	2.75	0.0163
Error	164.69	40	4.12		
Total	470.03	53			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=2.36772

Error: 4.1173 gl: 40

Trat.	Medias	n	E.E.			
3	0.94	6	0.83	A		
4	1.87	6	0.83	A	B	
9	2.29	6	0.83	A	B	
5	2.39	6	0.83	A	B	
8	3.19	6	0.83	A	B	C
6	3.24	6	0.83	A	B	C
1	3.92	6	0.83		B	C
7	4.76	6	0.83			C
2	5.17	6	0.83			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Año	Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
2011	# Frutas	54	0.44	0.25	88.39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2834.06	13	218.00	2.38	0.0180
Bloque	1899.72	5	379.94	4.14	0.0040
Trat.	934.33	8	116.79	1.27	0.2843
Error	3667.44	40	91.69		
Total	6501.50	53			

Año	Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
2011	Peso (kg.)	54	0.44	0.26	93.57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	39.55	13	3.04	2.43	0.0158
Bloque	27.05	5	5.41	4.32	0.0031
Trat.	12.50	8	1.56	1.25	0.2976
Error	50.09	40	1.25		
Total	89.65	53			

Apéndice J. Análisis de varianza de volumen del jugo el día de la cosecha en el jugo de limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico. 2010 y 2011.

Epoca	Variable	N	R²	R² Aj	CV
2010	Vol	90	0.28	0.21	34.94

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3202.20	8	400.27	3.93	0.0006
Trat.	3202.20	8	400.27	3.93	0.0006
Error	8257.90	81	101.95		
Total	11460.10	89			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=8.98446

Error: 101.9494 gl: 81

Trat.	Medias	n	E.E.			
7	38.30	10	3.19	A		
9	34.10	10	3.19	A	B	
1	33.40	10	3.19	A	B	
4	31.90	10	3.19	A	B	
6	29.30	10	3.19		B	C
8	27.30	10	3.19		B	C D
3	25.90	10	3.19		B	C D
2	21.30	10	3.19			C D
5	18.60	10	3.19			D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Epoca	Variable	N	R²	R² Aj	CV
2011	Vol	90	0.33	0.26	37.06

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4393.40	8	549.18	4.98	<0.0001
Trat.	4393.40	8	549.18	4.98	<0.0001
Error	8930.60	81	110.25		
Total	13324.00	89			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=9.34324

Error: 110.2543 gl: 81

Trat.	Medias	n	E.E.			
7	40.00	10	3.32	A		
1	36.50	10	3.32	A	B	
9	32.80	10	3.32	A	B	C
4	29.90	10	3.32		B	C
6	28.90	10	3.32		B	C
8	25.90	10	3.32			C D
3	23.50	10	3.32			C D
2	19.40	10	3.32			D
5	18.10	10	3.32			D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes(p<= 0.05)

Apéndice K. Análisis de varianza de concentración de sólidos solubles (Brix) y pH en el jugo de limón 'Tahití' en Lajas, Puerto Rico. 2010 y 2011.

Análisis de la varianza

Epoca	Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
2010	Brix	90	0.12	0.04	5.51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2.55	8	0.32	1.42	0.2010
Trat.	2.55	8	0.32	1.42	0.2010
Error	18.20	81	0.22		
Total	20.76	89			

Epoca	Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
2010	pH	90	0.35	0.28	4.80

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.33	8	0.17	5.42	<0.0001
Trat.	1.33	8	0.17	5.42	<0.0001
Error	2.47	81	0.03		
Total	3.80	89			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.15551

Error: 0.0305 gl: 81

Trat.	Medias	n	E.E.				
1	3.94	10	0.06	A			
6	3.73	10	0.06		B		
3	3.67	10	0.06		B	C	
7	3.62	10	0.06		B	C	D
4	3.59	10	0.06		B	C	D
8	3.59	10	0.06		B	C	D
5	3.57	10	0.06			C	D
2	3.56	10	0.06			C	D
9	3.51	10	0.06				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Epoca	Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
2011	Brix	90	0.25	0.17	6.89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10.49	8	1.31	3.31	0.0025
Trat.	10.49	8	1.31	3.31	0.0025
Error	32.05	81	0.40		
Total	42.54	89			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.55972

Error: 0.3957 gl: 81

Trat.	Medias	n	E.E.			
7	9.44	10	0.20	A		
2	9.41	10	0.20	A		
4	9.35	10	0.20	A		
1	9.32	10	0.20	A		
6	9.30	10	0.20	A	B	
8	9.17	10	0.20	A	B	
5	9.05	10	0.20	A	B	
3	8.75	10	0.20		B	C
9	8.35	10	0.20			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Epoca	Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
2011	pH	90	0.69	0.66	6.17

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11.47	8	1.43	22.50	<0.0001
Trat.	11.47	8	1.43	22.50	<0.0001
Error	5.16	81	0.06		
Total	16.63	89			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.22459

Error: 0.0637 gl: 81

Trat.	Medias	n	E.E.				
1	5.01	10	0.08	A			
7	4.31	10	0.08		B		
4	4.10	10	0.08		B	C	
6	4.04	10	0.08			C	D
2	3.91	10	0.08			C	D
5	3.88	10	0.08			C	D
9	3.86	10	0.08				D
3	3.85	10	0.08				D
8	3.84	10	0.08				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)