



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

CAMPUS V



**Identificación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de café
orgánico y su efecto sobre *Hemileia vastatrix***

TESIS

Que para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA
TROPICAL**

Presenta

WILBER BELEN AGUILAR FLORES L060001

Director de tesis

DR. JOSÉ ALFREDO MEDINA MELÉNDEZ

Villaflores, Chiapas, México

Mayo, 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS, *CAMPUS V.*
DIRECCIÓN



Villaflores, Chiapas
11 de mayo de 2022
Oficio N° D/415/22

C. WILBER BELÉN AGUILAR FLORES
MAESTRANTE EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS CAMPUS V
P R E S E N T E.

En atención a que usted ha presentado los votos aprobatorios del Honorable Jurado designado para su evaluación de posgrado, de la tesis titulada: "**Identificación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de café orgánico y su efecto sobre *Hemileia vastatrix***", por este medio le comunico que se le autoriza la impresión del documento, de acuerdo a los lineamientos vigentes de la Universidad.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR LA CONCIENCIA DE LA NECESIDAD DE SERVIR"

FACULTAD DE
CIENCIAS AGRONÓMICAS

UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE CHIAPAS
DIRECCIÓN

M. C. CARLOS ALBERTO VELÁZQUEZ SANABRIA
DIRECTOR

C. c. p. Archivo

CAVS*marh.



Código: FO-113-09-05

Revisión: 0

CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE LA TESIS DE TÍTULO Y/O GRADO.

El (la) suscrito (a) Wilber Belen Aguilar Flores,
Autor (a) de la tesis bajo el título de “ Identificación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de café orgánico y su efecto sobre *Hemileia vastatrix,*”
presentada y aprobada en el año 2022 como requisito para obtener el título o grado de Maestro en Ciencias Agropecuaria Tropical, autorizo a la Dirección del Sistema de Bibliotecas Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH), a que realice la difusión de la creación intelectual mencionada, con fines académicos para que contribuya a la divulgación del conocimiento científico, tecnológico y de innovación que se produce en la Universidad, mediante la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Consulta del trabajo de título o de grado a través de la Biblioteca Digital de Tesis (BIDITE) del Sistema de Bibliotecas de la Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH) que incluye tesis de pregrado de todos los programas educativos de la Universidad, así como de los posgrados no registrados ni reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad del CONACYT.
- En el caso de tratarse de tesis de maestría y/o doctorado de programas educativos que sí se encuentren registrados y reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), podrán consultarse en el Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma de Chiapas (RIUNACH).

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; a los 23 días del mes de mayo del año 2022.

Wilber Belen Aguilar Flores

Nombre y firma del Tesista o Tesistas

AGRADECIMIENTOS

Mis agradecimientos a mi director de tesis el Dr. José Alfredo Medina Meléndez y a mi asesor el Dr. Ramiro Eleazar Ruiz Nájera ambos de la Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH) por darme todo el respaldo y asesoramiento para iniciar y culminar esta investigación, gracias por su apoyo para el acceso en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH), muchas gracias por la confianza que me han brindado.

Agradecimiento especial a mi codirectora la Dra. Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar y a mi asesor el Dr. Gabriel Rincón Enríquez, ambos del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C. (CIATEJ), por todo su apoyo y paciencia que me brindaron en el aprendizaje sobre las técnicas desarrolladas en el Laboratorio de Fitopatología de la Unidad de Biotecnología Vegetal del CIATEJ. A mi asesora la Dra. Laura Hernández Cuevas del Instituto Tecnológico de Tlajomulco, Jalisco (ITTJ), por todo su asesoramiento y consejos en la investigación, muchas gracias Dra. Laura.

Agradezco al Consorcio Social del Café Mexicano A. C. a la Federación de Sociedades Cooperativas Indígenas y Ecológicas de Chiapas (FESICH), por todo el apoyo brindado para trabajar con sus socios cafetaleros orgánicos, gracias por darnos la oportunidad de trabajar con productores tzeltales, fue una gran experiencia.



Esta tesis de investigación de maestría forma parte del área de investigación:

“Desarrollo y evaluación de biofertilizantes-biopesticidas a base de hongos micorrízicos arbusculares nativos mexicanos”

Financiado por diferentes apoyos de proyectos CONACyT

Líder de la investigación: Dra. Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar

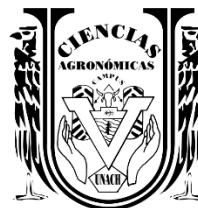
La presente investigación se desarrolló en las instalaciones del: Laboratorio de Fitopatología de la Unidad de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C. (CIATEJ), en el Laboratorio de Biología Molecular del Centro de Investigación en Genética y Ambiente, de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (UATx) y en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH), bajo la dirección del Dr. José Alfredo Medina Meléndez y codirección de la Dra. Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar del CIATEJ, así como la asesoría del Dr. Gabriel Rincón Enríquez del CIATEJ, de la Dra. Laura Hernández Cuevas de la UATx y del Dr. Ramiro Eleazar Ruíz Nájera de la UNACH.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

CAMPUS V



MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL

Esta tesis titulada, “**Identificación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de café orgánico y su efecto sobre *Hemileia vastatrix***”. fue parte del proyecto de investigación “Desarrollo y evaluación de biofertilizantes-biopesticidas a base de hongos micorrízicos arbusculares nativos mexicanos”, financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, bajo la dirección de la Dra. Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar.

Forma parte de los productos del cuerpo académico Sistemas Integrales de Producción, bajo la dirección del Dr. José Alfredo Medina Meléndez. Se incluye en la línea de generación y aplicación del conocimiento: **Tecnología e Innovación en los Sistemas Tradicionales y Alternativos de Producción Sustentable**, del Programa de Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivo general.....	2
1.1.1 Objetivos particulares	2
1.2 Hipótesis	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Condiciones ambientales del cultivo del cafeto.....	4
2.2 Principales variedades de café en México	4
2.3 Producción de café orgánico en el estado de Chiapas	5
2.4 Principales plagas y enfermedades del café.....	6
2.5 Roya del café	6
2.5.1 Sintomatología de la roya del café	7
2.5.2 Diseminación de la roya del café	8
2.6 Uso de microorganismos benéficos	9
2.6.1 Hongos micorrízicos arbusculares (HMA)	10
2.6.2 Especies de hongos micorrízicos arbusculares conocidas en el mundo, en México y en el cultivo de café en Chiapas.....	11
2.6.3 Hongos micorrízicos como biofertilizante	12
2.6.4 Hongos micorrízicos arbusculares como agentes de control biológico.....	13
3. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1 Ubicación del área de estudio.....	18
3.2 Metodología experimental.....	19
3.2.1 Fase I: Muestreo de suelos en cafetales para la obtención de los inóculos base de HMA.....	20
3.2.2 Fase II: Identificación de las diferentes especies de los HMA asociadas a la rizosfera del del café orgánico y el análisis físico químico de los suelos de procedencia de los HMA.....	21
3.2.3 Fase III: Multiplicación de los HMA en los consorcios y cuantificación de esporas.....	24
3.2.4 Fase IV: Evaluación del efecto de los consorcios de los HMA sobre el crecimiento y la bioprotección hacia la roya en plantas de café en condiciones de vivero.....	26
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	30
4.1 Análisis fisicoquímico de los suelos de procedencia de los HMA	30

4.2 Riqueza de especies de HMA asociados a la rizósfera de <i>Coffea arabica</i> , en las variedades Bourbon y Sarchimor orgánico	32
4.3 Riqueza de especies de HMA asociados a los consorcios Bor y Sar.	36
4.3.1 Conteo de esporas de los consorcios de HMA nativos.....	36
4.3.2 Identificación de especies de los HMA en los Consorcios nativos	37
4.4 Evaluación de los efectos de los HMA en el desarrollo vegetativo de las plantas de café a nivel de vivero.	39
4.4.1 Altura, diámetro y número de hojas de las plantas de café	39
4.4.2 Severidad de la roya del café <i>Hemileia vastatrix</i> en plantas de café inoculadas con HMA.....	44
4.4.3 Incidencia de la roya <i>Hemileia vastatrix</i> en las plantas de café inoculadas con HMA a nivel de vivero.....	48
4.4.4 Variables del sistema radicular (longitud, volumen y peso seco)de plantas de café inoculadas con HMA en condiciones de vivero.....	51
4.4.5 Área foliar total	55
4.4.6 Peso seco de la parte aérea de plantas inoculadas con HMA en condiciones de vivero	58
5. CONCLUSION	61
6. LITERATURA CITADA.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Modelo epidemiológico-inductivo de <i>H. vastatrix</i> tomado de Calderón <i>et al.</i> (2013).....	8
Figura 2. La simbiosis aumenta la capacidad de absorción de nutrientes y e los HMA que se extieagua de la raíz gracias a las hifas dnden más que las raíces secundarias y los pelos radicales (Robles, 2006).	11
Figura 3. El aumento de microorganismos benéficos en el suelo, genera buenas interacciones tridireccionales planta-microbio-artrópodo (PMA) que mejoran las señalizaciones y la resiliencia que coordinan las respuestas ante un ataque a la planta (Gruden <i>et al.</i> , 2009).	15
Figura 4. La utilización de los HMA en los cultivos aumenta y activan SLs= Estrigolactona, SA= Ácido Salicílico y JA= Ácido jasmónico (Jung <i>et al.</i> , 2012).....	17
Figura 5. Ubicación del vivero de café en la Col. Presidente Echeverria, municipio de Venustiano Carranza, Chiapas.	19
Figura 6. Esquema de aislamiento e identificación de los HMA.....	22
Figura 7. Identificación de especies de hongos micorrizicos arbusculares.	23
Figura 8. Multiplicación de los HMA en plantas trampa.	24
Figura 9. Escala para evaluación de la severidad de roya del cafeto en planta (SENASICA, 2018).....	29
Figura 10. Densidad de esporas de HMA a partir de macetas provenientes de distintas variedades de café (Sarchimor= S; Bourbon= BR) en época de seca.	36
Figura 11. Efecto de los HMA en el crecimiento de las plantas de café por factor de estudio: (Variedad de café, HMA y Roya del café. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba Tukey ($p \leq 0.05$). La barra indica \pm el error estándar.	42
Figura 12. Crecimiento de plantas de café de la variedad Bourbon y Sarchimor sin roya a los 150 días despues de la inoculación bajo condiciones de vivero. La escala en la foto de en medio va de 0 a 60 cm.	43
Figura 13. Nivel de severidad de la roya <i>Hemileia vastatrix</i> en las plantas de café cultivadas en vivero durante 150 DDI. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba Tukey ($p \leq 0.05$). La barra indica \pm el error estándar.....	45
Figura 14. Severidad de la roya en las plantas de café micorrizadas a los 150 DDI en condiciones de vivero. La escala en la foto de en medio va de 0 a 60 cm.....	47
Figura 15. Infestación de roya en las hojas de las plantas de café de la variedad Sarchimor (resistente a la roya) inoculadas con HMA 150 DDI en condiciones de vivero. La escala está en cm.....	50

Figura 16. Infestación de roya en las hojas de las plantas de café de la variedad Bourbon (susceptible a la roya) inoculadas con HMA 150 DDI en condiciones de vivero. La escala está en cm.	51
Figura 17. Longitud de la raíz en las variedades de café Bourbon y Sarchimor sin roya inoculadas con HMA en condiciones de vivero.	54
Figura 18. Longitud de la raíz en las variedades de café Bourbon y Sarchimor con roya inoculadas con HMA en condiciones de vivero.	54
Figura 19. Área foliar total de los diferentes tratamientos. Análisis ANOVA no paramétrico Prueba de Kruskal-Wallis Valor-P = 7.12965E-7. La barra indica ± el error estándar.	55
Figura 20. Crecimiento vegetativo de las hojas de las plantas de café de la variedad Bourbon sin roya a los 150 DDI en condiciones de vivero. La escala está en cm.	57
Figura 21. Crecimiento vegetativo de las hojas de las plantas de café de la variedad Sarchimor sin roya a los 150 DDI en condiciones de vivero. La escala está en cm.	57
Figura 22. Efecto de los HMA en el peso seco de la parte aérea en las plantas de café de los diferentes tratamientos. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba Tukey ($p \leq 0.05$). La barra indica ± el error estándar.	58

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Variedades de café orgánico, ubicadas en la región VI Frailesca, Chiapas.	20
Cuadro 2. Descripción del diseño de los tratamientos en el experimento de café, HMA y roya.	28
Cuadro 3. Características fisicoquímicas del suelo rizosférico de <i>Coffea arabica</i> de las muestras de la época seca de los cuatro sitios de muestreo.	31
Cuadro 4. Diversidad de especies de HMA encontradas en el suelo rizosférico de <i>Coffea arabica</i> , en distintos sitios y épocas de muestreo (seca y lluvia) en los municipios de La Concordia y Montecristo de Guerrero, Chiapas, México.	33
Cuadro 4. (Continuación)	34
Cuadro 5. Diversidad de especies de HMA identificados en las macetas trampa a partir de macetas trampas.....	38
Cuadro 6. Desarrollo de las plantas de café por efecto de la inoculación de HMA (diferentes tratamientos) bajo condiciones de vivero.	40
Cuadro 7. Efecto bioprotector de los HMA ante <i>Hemileia vastatrix</i> a los 150 DDI en plantas de café a los 150 DDI bajo condiciones de vivero.	48
Cuadro 8. Crecimiento del sistema radicular de plantas de café inoculadas con HMA en diferentes tratamientos bajo condiciones de vivero.....	52

RESUMEN

En México, el estado de Chiapas ocupa el primer lugar en la producción y exportación de café orgánico. En el año 2019 en el estado de Chiapas se establecieron 11,393.07 ha de café orgánico, que produjeron un ingreso de \$ 263, 523.35 millones de pesos, sin embargo, ha sido atacado por diversas plagas y enfermedades, dentro de ellas la roya del café *Hemileia vastatrix*, considerada como el patógeno más destructivo y de mayor importancia económica para el sector cafetalero a nivel mundial, ya que esta enfermedad redujo el 30% de la producción del café en el 2012 y más del 50% para el 2016 en México. Para contrarrestar esta problemática, se evaluó a consorcios de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) nativos a plantas de café de la variedad Sarchimor y Bourbon a nivel invernadero, ya que el uso biotecnológico de un consorcio de microorganismos, requiere estudios específicos para determinar su potencial de uso, iniciando por la diversidad e interacciones desarrolladas en ambientes controlados, pues a partir de ello se podrán generar indicadores que permitan conocer los efectos de éste en el hospedero; se tomó en consideración a estos microorganismos, ya que los HMA ayudan a la absorción de nutrientes de poca movilidad como: fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), azufre (S), hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu), manganeso (Mg) lo que da como resultado una mayor productividad del cultivo, plantas sin deficiencias nutrimentales y mayor resistencia a enfermedades. 120 días después de la inoculación (DDI), las plantas fueron infectadas con roya y a los 150 DDI se evaluó el efecto de los HMA en el desarrollo fisiológico encontrando un aumento del 250% en la altura, 168% en el diámetro, 142% en la longitud de la raíz, 373% en el peso seco de la raíz, 327% en el crecimiento del área foliar y 888% en el peso seco de la parte aérea, aumentos comparados con las plantas testigo (sin HMA). Así mismo se evaluó el efecto bioprotector de los HMA logrando disminuir el 22% en la variedad Bourbon y 10% en la variedad Sarchimor en el nivel de severidad de la roya y el 18% en la incidencia de este patógeno en la variedad Sarchimor y 14.7% en la variedad Bourbon, haciendo que esta innovación biotecnológica sea muy rápida en demostrar sus principales beneficios al cultivo para ser considerada como una alternativa agroecológica para el productor orgánico.

Palabras clave: Café orgánico, Café Bourbon, Café Sarchimor, Micorrizas.

ABSTRACT

In Mexico, the state of Chiapas ranks first in the production and export of organic coffee. In 2019 in the state of Chiapas 11,393.07 ha of organic coffee were established, which produced an income of \$ 263, 523.35 million pesos, however, it has been attacked by various pests and diseases, among them coffee rust *Hemileia vastatrix*, considered the most destructive pathogen and of greater economic importance for the coffee sector worldwide, since this disease reduced 30% of coffee production in 2012 and more than 50% by 2016 in Mexico. To counteract this problem, consortia of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) native to coffee plants of the Sarchimor and Bourbon varieties were evaluated at the greenhouse level, since the biotechnological use of a consortium of microorganisms requires specific studies to determine their potential use, starting with the diversity and interactions developed in controlled environments, since from this it will be possible to generate indicators that will allow knowing the effects of this on the host; These microorganisms were taken into consideration, since AMF help in the absorption of nutrients of low mobility such as: phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), sulfur (S), iron (Fe), zinc (Zn), copper (Cu), manganese (Mg) which results in higher plant productivity, plants without nutrient deficiencies and greater resistance to diseases. 120 days after inoculation (DDI), the plants were infected with rust and at 150 DDI the effect of AMF on physiological development was evaluated, finding an increase of 250% in height, 168% in diameter, 142% in root length, 373% in root dry weight, 327% in leaf area growth and 888% in aerial part dry weight, increases compared to control plants (without AMF). The bioprotective effect of AMF was also evaluated, achieving a 22% reduction in the level of rust severity in the Bourbon variety and 10% in the Sarchimor variety, and an 18% reduction in the incidence of this pathogen in the Sarchimor variety and 14.7% in the Bourbon variety, making this biotechnological innovation very quick in demonstrating its main benefits to the crop to be considered as an agroecological alternative for the organic producer.

Keywords: Organic coffee, Coffee Bourbon, Coffee Sarchimor, Mycorrhizae.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo del café es la base económica de muchos países y uno de los productos más comercializados del mercado mundial; se consumen 400 mil millones de tazas al año lo cual lo hace una de las bebidas más consumidas a nivel mundial (Palomares *et al.*, 2012).

En México se tiene un registro de 500 mil cafeticultores en todo el país, según datos de la SAGARPA (2017) y alrededor de 3 millones de mexicanos están asociados a la cadena productiva del café. El estado de Chiapas, es el principal productor de café en México, con una producción anual de 354, 944.47 t (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2019), lo que corresponde al 41% de la producción nacional. De acuerdo con el padrón de productores cafetaleros, en Chiapas hay 180,856 productores.

Actualmente los problemas que resaltan en la producción del café, son los bajos precios del producto, la falta de mano de obra, la edad de los cafetales, el exceso o la falta de lluvias y los frecuentes ataques de plagas y enfermedades. Este estudio está enfocado en una de ellas, la roya del café (*Hemileia vastatrix*), enfermedad que devasta plantaciones.

Se tiene registro de la roya en México desde el año 1981, pero es a partir del 2012 que comienza a generar grandes pérdidas económicas, ya que provoca la caída prematura de las hojas, lo que propicia el debilitamiento de árboles enfermos; en infecciones severas ocasionan la muerte de árboles, a *H. vastatrix* se le considera el patógeno más destructivo y de mayor importancia económica para el sector cafetalero a nivel mundial.

De acuerdo con los datos históricos del SIAP, la producción de café en el año 2011 fue de 1, 336, 882.14 t y ésta fue disminuyendo de manera gradual; en 2018 se registró una producción de 859, 992.30 t, que representó una disminución del 35.7% en la producción nacional.

En la búsqueda de una solución rápida a este problema, muchos estudios fueron enfocados a la utilización de variedades de café resistentes a la roya, sin embargo,

estas soluciones han derivado en distintas problemáticas como el desarrollo de otras enfermedades, mala calidad en taza y desconocimiento del manejo agronómico de esas variedades por parte del productor. Ante este panorama, urgen estudios para encontrar alternativas dirigidas al control de la roya, que beneficien el mantenimiento y la producción de los agroecosistemas cafetaleros actuales del estado de Chiapas.

Para ello es importante considerar a los microorganismos asociados a la rizosfera, estos microorganismos (bacterias, hongos, virus, protozoarios, algas, nematodos) juegan un papel importante en la sanidad y la productividad de las plantas. Entre estos microorganismos rizosféricos, destacan los benéficos, tales como los hongos micorrizicos arbusculares (HMA), estos forman simbiosis con las plantas terrestres, actuando como un complemento de la raíz de la planta en la toma de nutrientes, en la mejora de la calidad y de la estructura del suelo, además de que inducen a la resistencia contra enfermedades y aumentan la productividad de las plantas (Rodríguez *et al.*, 2011; Mujica y Molina, 2017).

La diversidad de los HMA es muy amplia, por ello, es necesario conocer si existe asociación simbiótica con estos microorganismos en las plantas de *Coffea arabica* L., e identificar las especies de los HMA que se encuentran asociados, que permitan generar estrategias hacia una agricultura orgánica más sólida y firme en el estado de Chiapas.

1.1 Objetivo general

Determinar el efecto de los consorcios de hongos micorrizicos arbusculares nativos de los sistemas de producción orgánica de *Coffea arabica*, sobre la enfermedad producida por la roya *Hemileia vastatrix* en plantas de café, en condiciones de vivero, en Venustiano Carranza, Chiapas.

1.1.1 Objetivos particulares

- a) Aislar, propagar y determinar la composición de especies de consorcios nativos de HMA de las plantaciones de café orgánico en los municipios La Concordia y Montecristo de Guerrero, Chiapas.

- b) Seleccionar los consorcios de HMA nativos mejor propagados para probar sus efectos en la bioprotección de las plantas de *Coffea arabica* de las variedades Bourbon y Sarchimor.
- c) Determinar los efectos de los consorcios de HMA nativos de las plantaciones de café orgánico sobre el crecimiento vegetal y la protección hacia la enfermedad producida por *Hemileia vastatrix* en plantas de *Coffea arabica* de las variedades Bourbon y Sarchimor.

1.2 Hipótesis

- La aplicación de los dos consorcios nativos de HMA aislados tendrán un efecto promotor de crecimiento y bioprotector positivo en la disminución del nivel de la severidad y el porcentaje de incidencia en las hojas de las plantas provocadas por *Hemileia vastatrix*, en las dos variedades de café.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Condiciones ambientales del cultivo del cafeto

El cafeto es una planta arbustiva cuya altura es de entre dos a seis metros en plantaciones en producción, mientras que en condiciones silvestres puede alcanzar mayor altura (Instituto del Café de Costa Rica ICAFE, 2011). Entre las condiciones óptimas para el cultivo del café, se encuentra:

Altitud entre los 500 y 1700 m snm. Por encima de este nivel se han observado limitaciones en relación con el desarrollo de la planta. Precipitación entre los 2000 a 3000 mm anuales. Con precipitaciones menores se presenta graves problemas de crecimiento de la planta, con precipitaciones mayores hay afectación en la calidad de la taza y problemas con enfermedades. Temperatura entre los 17 a 23 °C, temperaturas inferiores a 10 °C., provocan clorosis severa y envejecimiento de las hojas nuevas. Humedad relativa (Escamilla, 2016); en la zona cafetalera el aire es normalmente húmedo, pero cuando alcanza niveles superiores al 85%, se genera el ataque masivo de enfermedades fungosas que afectan la productividad de las plantas. Vientos fuertes ocasionando que las plantas de café muy altas por un mal manejo lleguen a caer; en las hojas provoca la desecación (Centro Nacional de Investigaciones del Café “CENICAFE”, 2016).

2.2 Principales variedades de café en México

El café fue introducido en México a finales del siglo XVIII y poco a poco fue incorporándose entre las bebidas calientes como el atole y el chocolate (Arellano, 2010). Entro a México directamente por Veracruz, en ese mismo estado se comenzó a producir y a exportar, el análisis sobre su importancia económica impulsó la intensificación del cultivo en Veracruz. Este grano llegó para quedarse y en la actualidad el sector cafetalero ofrece el más puro y excelente grano de especialidad (Asociación Mexicana de Cafés y Cafeterías de Especialidad “AMCCE”, 2016).

El café es un producto básico que se cotiza en los principales mercados de materias primas en Londres y Nueva York, es por ello que la industria cafetalera creció rápidamente en el país; las principales zonas cafetaleras que más resaltan en todo

México para este cultivo son: las regiones de Coatepec, Veracruz; Pluma Hidalgo, Oaxaca; el Soconusco y Los Altos, en Chiapas (Higuera y Rivera, 2018).

Actualmente se cultivan principalmente las variedades de la especie *Coffea arabica*, las más cultivadas son: Criolla (conocida como Típica), Bourbon, Caturra, Maragogipe, Mundo novo y Robusta (López *et al.*, 2016). Como parte de las estrategias del gobierno de México, para dar soluciones contra el problema de la roya del café en Chiapas, se comenzó desde el año 2012 a distribuir plantas de café de las variedades Catimor, Costa Rica-95, Oro Azteca, Sarchimor y Marsellesa, resistentes a la roya (Escamilla, 2016; Libert y Paz, 2018).

2.3 Producción de café orgánico en el estado de Chiapas

A través de un estricto control de calidad se produce el café orgánico, sin la utilización de agroquímicos, de fertilizantes convencionales, de herbicidas (glifosato), ni de hormonas de crecimiento, que dañan la salud de los consumidores, para ello se diseña un plan estratégico considerando el manejo agronómico del cultivo y todos los estándares de producción, lo cual es monitoreado por certificadoras de productos orgánicos para supervisar el cumplimiento de cada actividad y asegurar la calidad de los alimentos (Palomares *et al.*, 2012). Una de las virtudes del cultivo del café orgánico que más sobresalen es la utilización de árboles frutales y maderables dentro de su sistema de producción, esta complejidad lo convierte en un cultivo amigable con el medio ambiente, además es producido en su mayoría por productores indígenas (González, 2010).

El mercado del café orgánico reposa en consumidores dispuestos a pagar un aumento del 15 al 20% del café, en el precio del café, para mantener su salud al ingerir un producto libre de agroquímicos. En México, el estado de Chiapas ocupa el primer lugar en la producción y exportación de café orgánico, seguido de Oaxaca, Veracruz y Puebla, con una producción total de 350 mil sacos de 60 kg, lo que convierte a México en el segundo productor mundial (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria “CEDRSSA”, 2018). En el año 2019 en el estado de Chiapas se establecieron 11393.07 ha de café orgánico, que produjeron un ingreso de 263,523.35 millones de pesos (SIAP, 2019).

2.4 Principales plagas y enfermedades del café

Existen diversas formas de controlar las plagas y enfermedades que atacan al cultivo del café, dependiendo del tipo de daño y del nivel del umbral económico se pueden utilizar: control biológico, cultural, mecánico, conductual y químico. El cultivo del café es atacado por plagas como broca del café, barrenadores del café y mosquita blanca y enfermedades como ojo de gallo (*Mycena citricolor*), nematodo del café (*Meloidogyne* sp.) y principalmente la roya del café (*Hemileia vastatrix*) en las variedades de *Coffea arabica* (Colonia, 2012).

2.5 Roya del café

La roya del café es una enfermedad causada por el hongo *Hemileia vastatrix*, su ciclo de aparición en el cultivo comienza en junio y suele terminar en mayo, pero todo depende de las condiciones climatológicas de cada lugar; el pico de la enfermedad suele producirse en diciembre, momento cuando el fruto alcanza su mayor madurez, lo que puede provocar una defoliación casi completa de las plantas en función de la severidad, puede causar la muerte de las plantas y ocasionar una pérdida de producción muy alta (ANACAFE, 2012).

El primer informe sobre la roya del café se produjo en Sri Lanka (antes conocida como isla de Ceilán) en 1869, ese mismo año, el experto británico en hongos Miles Joseph Berkeley describió el hongo, que causó la enfermedad y le dio el nombre científico de *Hemileia vastatrix* (Virginio y Astorga, 2015). En América Latina, la roya del café apareció por primera vez en Brasil en enero de 1970, desde donde se extendió a todas las regiones de ese país y por todos los países productores de café en Latinoamérica (ANACAFE, 2012).

En año 1981, la roya llegó a Chiapas, México; a lo largo de los años, se ha vuelto más agresiva debido a las constantes mutaciones que se han favorecido por el mal manejo fitosanitario por parte de los productores, pero no fue sino hasta en septiembre - octubre del 2012, donde se dieron las condiciones anormales de humedad y temperatura que favorecieron una gran proliferación de la roya del cafeto, lo que llevo a que la producción se redujera en un 30% a causa de esta enfermedad (SENASICA, 2013; Virginio y Astorga, 2015).

La importancia económica que representa *H. vastatrix* en México radica en que existe un área de siembra nacional superior a 737,376.45 ha, de las cuales se cosecharon 699,307.33 ha, se obtuvo una producción de café cereza de 1,166,025.82 toneladas, con un valor de producción que supera los 5,593 millones de pesos (SIAP, 2016). Sin embargo, *Hemileia vastatrix*, ha provocado una reducción en la producción de más de 50% entre los años 2012 y 2016, ocasionando grandes pérdidas económicas a los pequeños, medianos y grandes productores de café (CEDRSSA, 2019).

En resumen, los datos que se han registrado de esta enfermedad son alarmantes, ya que redujo el 30% de la producción del café en el 2012 y más del 50% para el 2016. Actualmente la preocupación de la industria cafetalera radica en que la mayoría de las variedades con más demanda de exportación son susceptibles a esta enfermedad.

2.5.1 Sintomatología de la roya del café

Una temperatura de 16-28 °C y un ambiente húmedo, favorecen a *H. vastatrix* para que pueda parasitar a las hojas vivas de los cafetos; se necesitan de 5 a 8 horas para formar la estructura de unión derivada de las hifas de los hongos parásitos; luego de que el hongo germina, las hifas formadas penetran por los estomas de las hojas, ubicados en el envés de la hoja, posteriormente, el hongo desarrolla una estructura llamada haustorios, que penetra a las células vegetales para extraer nutrientes y promover el crecimiento del hongo (Rayner, 1961).

Los síntomas de la enfermedad aparecen en el envés de las hojas en forma de pequeñas manchas amarillas o anaranjadas; el tamaño de las manchas aumenta con el tiempo y toman un aspecto pulverulento amarillo dado por las esporas, que en conjunto tienen coloraciones amarillas o naranjas. Cuando la enfermedad progresa, debido a la muerte del tejido, se observa un color ennegrecido en el centro de la mancha, esta muerte provoca después la caída de las hojas enfermas afectando drásticamente el proceso fotosintético de la planta (Virginio y Astorga, 2015) y reduce considerablemente la producción de café (Pérez, 2016).

Rivillas *et al.* (2011) indican que el proceso de contagio de la roya del café se inicia cuando aparecen los síntomas de la enfermedad por debajo de las hojas, generando manchas necróticas que aumentan de tamaño con el paso del tiempo, por lo que su

control debe ser preventivo, es decir, antes de que aparezcan estos síntomas, ya que una vez avanzada la enfermedad es muy difícil controlarla.

El tiempo que transcurre desde la infección hasta la producción de esporas se denomina período de incubación. Después de 30 días, el hongo ha madurado lo suficiente como para diferenciarse en una estructura llamada soros, a partir de los cuales puede dispersarse la enfermedad a otras plantas como se observa en la Figura 1, por lo tanto, su control debe ser rápido y oportuno (Rivillas *et al.*, 2011).



Figura 1. Modelo epidemiológico-inductivo de *H. vastatrix* tomado de Calderón *et al.* (2013).

2.5.2 Diseminación de la roya del café

Las esporas del hongo *H. vastatrix* se desprenden fácilmente de las plantas provocando así una dispersión de esta enfermedad; la roya es transmitida por el hombre, el viento, la lluvia, los insectos y otros animales, que transportan las esporas de una planta infectada por roya a otra no infectada, por lo que su control fitosanitario en campo es muy difícil y costoso económicamente (Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias "FONAIAP", 1984).

Se han reportado casos en la India, en donde encontraron insectos de las especies *Euphysothrips subramanii* y *Scirtothrips bispinosus* que, al alimentarse de las pústulas de la roya, acarrean grandes cantidades de esporas facilitando la dispersión entre las plantas de este cultivo. Con base en todo esto se ha propuesto que la llegada de la roya a México fue a través de plantas vivas, de personas del extranjero con esporas en su vestimenta o bien de sacos de exportación (García, 2013).

Para este estudio se entiende como roya del café a la principal enfermedad que ataca al cultivo del café y provoca la caída parcial o total de las hojas de las plantas, ocasionando grandes pérdidas económicas, tal como lo mencionan diversos autores e instituciones (ANACAFE, 2014; Virginio y Astorga, 2015; Medina *et al.*, 2016; FIRA, 2016; Henderson, 2019). Ante esta situación, instituciones de gobierno, organizaciones y centros de investigación agrícola deben buscar alianzas para encontrar alternativas encaminadas a resolver esta problemática.

2.6 Uso de microorganismos benéficos

Para resolver los problemas ocasionados por esta enfermedad en el cultivo del café, las políticas públicas implementadas a través de instituciones federales y estatales comprenden la distribución de variedades de plantas resistentes a la roya, sin tomar en cuenta ninguna propuesta agroecológica, lamentablemente en la actualidad es posible ver las consecuencias productivas y ecológicas, como lo describe Henderson (2019). Estas plantas requieren al año de dos aplicaciones de fertilizantes químicos, de una poda de formación y de dos o tres limpiezas para el manejo de sombra, lo que demanda mucha mano de obra e insumos, además de tener una vida productiva de sólo ocho a doce años.

Lo que se busca en esta investigación es aportar conocimientos que favorezcan la producción de café, pero de las variedades tradicionales, a través del uso de microorganismos benéficos que controlen la roya, ya que existen en el suelo comunidades microbianas que realizan funciones clave para mantener la productividad de las plantas, al proveerles de nutrientes y al estimular procesos fisiológicos y la producción de diferentes metabolitos de resistencia; entre los organismos que viven en el suelo, se puede destacar la función ecológica de los hongos micorrízicos

arbusculares (HMA), que tiene un alto impacto en la estabilidad de los ecosistemas aun cuando las condiciones edáficas son extremas (Garzón, 2016).

Además, son los responsables de mantener los nutrientes en los ecosistemas, específicamente entre el suelo y la plantas, pero por otro lado la agricultura convencional ha provocado la destrucción de microorganismos benéficos y han favorecido a grupos de hongos melanizados, patógenos, costras y líquenes, es por ello que la utilización de fungicidas en policultivos no ha logrado controlar los fitopatógenos (Romero, 2020).

2.6.1 Hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

Los HMA son microorganismos benéficos que habitan en el suelo y proporcionan una conexión entre el suelo y las raíces de las plantas, incluso entre plantas vecinas, lo que permite el intercambio de nutrientes, dentro de ellos el fósforo (P), al existir un nivel bajo de P en el suelo, habrá un bajo nivel de fosfolípidos en la membrana vegetal, por lo tanto, se generará una mayor exudación de estrigolatonas en el sistema radicular, esta hormona es una de las responsables de estimular la simbiosis en la colonización del hongo con la planta. (Contreras, 2016).

Los suelos de los cafetales en todo Centroamérica contienen un pH bajo (alta acidez) y tienden a tener bajo contenido de fósforo, por lo que la utilización de estos microorganismos es de gran importancia para el desarrollo radicular y para mejorar la productividad de las plantas (Figura 2) (Aprile, 2017), ya que la micorriza es una asociación simbiótica en la que el huésped y el hospedero, se benefician mutuamente (Andrade, 2010).

Los HMA son los simbiosiontes más comunes de las plantas; viven en el suelo y pertenecen al *Phylum* o División Glomeromycota. Gran parte de las plantas en el mundo están asociadas con HMA; se estima que cerca de 200,000 hospederos-plantas-, se asocian con estos organismos: el 83% de las dicotiledóneas, el 79% de las monocotiledóneas y todas las gimnospermas forman regularmente asociaciones micorrízicas (Sánchez, 2015).

Se ha identificado que los HMA ayudan a la absorción de nutrientes de poca movilidad como; fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), azufre (S), hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu),

manganeso (Mg) (Sánchez, 2015) y a la absorción de agua (Díaz *et al.*, 2013), lo que da como resultado una mayor productividad vegetal, plantas sin deficiencias nutrimentales y mayor resistencia a enfermedades (Padrón *et al.*, 2019), a su vez, como parte del intercambio los HMA obtienen carbohidratos de las plantas y de esta manera se fortalece la simbiosis entre los HMA y las plantas (Barrer, 2009; Rodríguez *et al.*, 2011; Mujica y Molina, 2017; Hernández *et al.*, 2020).

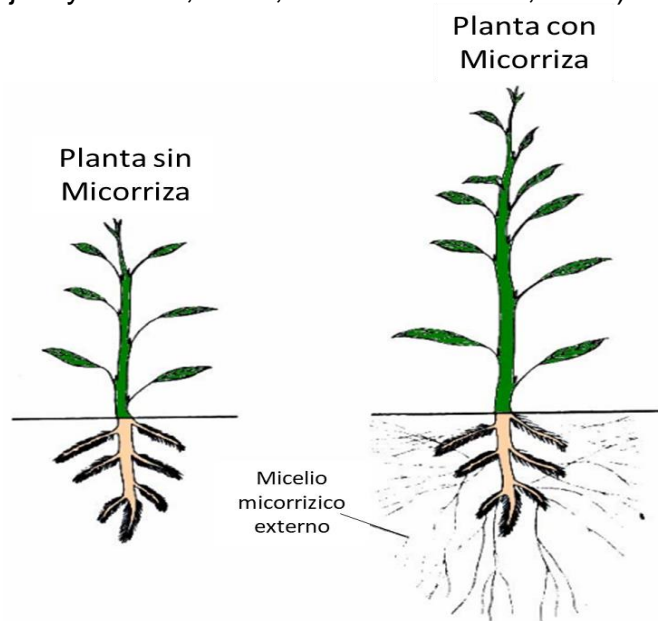


Figura 2. La simbiosis aumenta la capacidad de absorción de nutrimentos y agua de la raíz gracias a las hifas de los HMA que se extienden más que las raíces secundarias y los pelos radicales (Robles, 2006).

2.6.2 Especies de hongos micorrízicos arbusculares conocidas en el mundo, en México y en el cultivo de café en Chiapas

Los registros fósiles y datos moleculares demuestran que los HMA han estado asociados con las plantas por más de 400 millones de años, es por ello que se consideran como la columna vertebral del suelo (Barea *et al.*, 2002). De acuerdo con datos de la lista de especies actualizada en noviembre del 2021 (http://www.amf-phylogeny.com/amphylo_species.html) existen 341 especies reportadas de HMA en todo el mundo.

En México, se han registrado 143 especies de HMA, que representa el 41% de las especies conocidas a nivel mundial, se ha encontrado en ecosistemas áridos y semiáridos (Álvarez *et al.*, 2019) y 50 especies de HMA se han identificado en cultivos de café *Coffea arabica* (Hernández *et al.*, 2020).

Bertolini *et al.* (2020), realizaron una investigación donde identificaron HMA en el cultivo del café en la región del Soconusco, del estado de Chiapas, ya que aseguran que su utilización mejoraría la producción y la sanidad de las variedades tradicionales que existen en el estado y contribuiría a evitar la sustitución de una especie de cafeto por otra. En el estudio se identificaron 10 géneros y 27 especies de HMA; una de ellas, *Ambispora reticulata*, que fue un nuevo registro para Chiapas y México.

2.6.3 Hongos micorrízicos como biofertilizante

En la agricultura, cada día aumenta el uso de los hongos micorrízicos arbusculares como biofertilizantes, lo que ha disminuido drásticamente las aplicaciones de los fertilizantes químicos en los cultivos (Barrer, 2009). En todo México actualmente se están comercializando bajo distintas marcas y presentaciones, por empresas particulares e instituciones como; Buckman Laboratories, Plant Health Care, la Universidad Veracruzana, Colegio de Postgraduados, Biofábrica Siglo XXIII e INIFAP por mencionar a los más comunes (Hernández, *et al.*, 2020).

Existen numerosas investigaciones en diferentes cultivos que respaldan la utilización de los HMA como biofertilizantes, dentro de ellos se puede resaltar la aplicación de micorrizas en la producción de frutales. Por ejemplo, en el cultivo del durazno evaluaron la aplicación de HMA *Funneliformis mosseae* y encontraron un 45% de aumento en el crecimiento de la biomasa seca del fruto, en comparación con las plantas no micorrizadas; con la especie de HMA *Funneliformis mosseae*, este estudio demostró que con la utilización de los HMA en frutales pueden lograrse grandes rendimientos cuidando al medio ambiente (Wu *et al.*, 2011).

Con respecto al cultivo de alimentos básicos, en maíz crecido en suelos con bajo contenido de fósforo, aumentaron los rendimientos debido a la influencia de los HMA *Scutellospora pellucida*, *Scutellospora calospora*, *Glomus leptotichum* y *Acaulospora mellea*, nativos del suelo, de manera individual y en consorcios; considerando los rendimientos de la zona, los inóculos en consorcios redujeron la cantidad de aplicación de P en un 25% y aumentaron el rendimiento de maíz en un 100% (de 2 a 4 t ha⁻¹) (Cabral *et al.*, 2016).

Con relación al cultivo del café se realizó una investigación utilizando los HMA para el crecimiento de plantas de café de la variedad Caturra en condiciones de vivero durante siete meses con la aplicación de nueve consorcios de HMA; se demostró que la aplicación de HMA en plantas de café, incrementó la biomasa seca radicular entre 77.16 y 203.22%, en comparación con las plantas no inoculadas y efectos positivos en los parámetros morfológicos de la planta (Del Aguila *et al.*, 2018).

Por lo tanto, la aplicación de los HMA puede reducir el uso de hormonas de crecimiento y fertilizantes químicos, evitando la degradación de los ecosistemas y la pérdida de nutrientes en los suelos agrícolas. Además de mantener la capacidad de producción en el sistema, se puede proteger la biodiversidad promoviendo una producción más sostenible, es decir la utilización de los HMA como parte del manejo agronómico de los cultivos es muy importante y beneficiosa para todo el sistema agrícola (Hernández y Chauilloux, 2004).

2.6.4 Hongos micorrízicos arbusculares como agentes de control biológico

La agricultura convencional con la utilización de agroquímicos y de maquinaria pesada conlleva a pérdidas importantes de los suelos debido a que favorece la erosión por viento y por agua, al mismo tiempo que se reducen la cobertura vegetal, la materia orgánica y organismos e interacciones ecosistémicas, lo que lleva a que los sistemas de producción cuenten con pocas defensas y una baja rentabilidad (Clavijo, 2013).

En la producción de café convencional utilizan un paquete tecnológico a base de agroquímicos, pero han observado que cada año este tipo de manejo se vuelve menos rentable debido al aumento de los costos de los insumos y de las dosis para el control de las plagas y enfermedades (ICAFE, 2011). Por lo tanto, resulta poco eficiente controlar la roya únicamente con fungicidas, ya que son muchos los factores que deben tomarse en cuenta como: el manejo de sombra del cafetal, densidad de plantas, aplicación de fungicidas preventivos, podas estratégicas, monitoreos constantes de la enfermedad y nutrición adecuada de las plantas, para asegurar el vigor y equilibrio para el desarrollo adecuado del café (García, 2013).

Se ha documentado que la utilización de microorganismos benéficos ayuda a controlar enfermedades y a mejorar la nutrición vegetal (Rivillas, 2019). Factores esenciales

para el control de esta enfermedad son los HMA, sus efectos positivos se basan en que esta simbiosis mejora la nutrición, la salud y la vitalidad de las plantas, esto se debe a que la planta micorrizada podrá asimilar nutrientes del suelo accesibles para los HMA, necesarios para todo el buen funcionamiento y crecimiento vegetativo de las plantas (Riveros, 2010).

Además, los HMA estimulan una mayor tasa fotosintética en las plantas, generada por una mayor eficiencia en la utilización de P en el proceso fotosintético, que induce en la formación de compuestos que influyen la función de los cloroplastos, entre los cuales están implicadas las fitohormonas (Paillaco, 2010). Dentro de esas fitohormonas están las estrigolactonas, el ácido salicílico y el ácido jasmónico en las plantas, poniéndolas en un estado de "alerta", en el que las defensas se activan, para dar una respuesta más rápida e intensa ante el ataque de un patógeno o plaga (Jung *et al.*, 2012).

Se ha comprobado que el ácido jasmónico y el etileno conllevan a la síntesis de sustancias tóxicas para los fitopatógenos, como fitoalexinas que son metabolitos secundarios, con propiedades antimicrobianas, producidos por las plantas en respuesta a una infección, daño mecánico o a estrés (García y Pérez, 2005) y las proteínas relacionadas con la patogénesis, que inducen a la RSA (Resistencia Sistemática Adquirida) y a la RSI (Resistencia Sistémica Inducida) en las plantas al encender su sistema de alerta al momento de colonizar la raíz y activar rutas metabólicas (Madriz, 2002). Este mecanismo es conocido como potenciador o "priming" (Figura 3) (Jung *et al.*, 2012).

Por otro lado, cuando las plantas de café que son atacadas por *H. vastatrix*, de manera natural activan mecanismos de respuesta hipersensible (HR), por efectores patogénicos, que se asocian con la deposición de callos, de compuestos fenólicos (flavonoides y ácido clorogénico), de enzimas como las lipoxigenasas y las peroxidasas que estimulan la vía de los fenilpropanoides y de las proteínas relacionadas con la resistencia a patógenos (PR), como la β -1,3-glucanasa y la quitinasa (Florez *et al.*, 2017). A respecto, Jung *et al.* (2012), señalaron que las plantas micorrizadas (HMA), activan y aumentan la quitinasa y la glucanasa (Figura 4).

Resulta interesante el comportamiento de ambas enzimas, ya que degradan la quitina y los glucanos, que forman parte de la pared celular del hongo y de las hifas generadas por la esporulación y como consecuencia protegen a la planta de la colonización por la roya (Guerra *et al.*, 2009; González *et al.*, 2011); probablemente las plantas micorrizadas utilizan a la quitinasa para degradar la pared celular fúngica y usarla como un sistema protector durante la incidencia de la roya (Monteiro *et al.*, 2016).

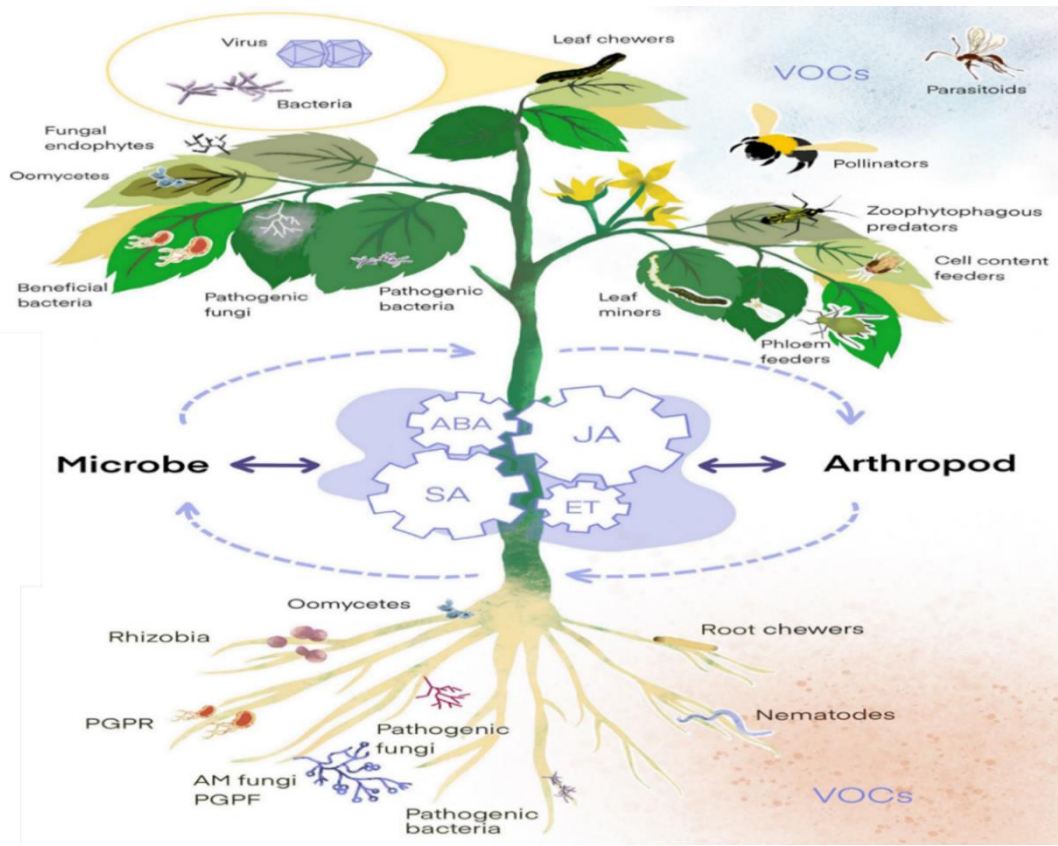


Figura 3. El aumento de microorganismos benéficos en el suelo, genera buenas interacciones tridireccionales planta-microbio-artrópodo (PMA) que mejoran las señalizaciones y la resiliencia que coordinan las respuestas ante un ataque a la planta (Gruden *et al.*, 2009).

Además de estas dos enzimas complejas que se involucran cuando una planta es atacada por *H. vastatrix*, fitopatógeno que ataca principalmente las hojas, se ha descubierto que se activa la enzima peroxidasa, mejorando el sistema antioxidativo, como mecanismo protector ante agentes oxidantes como el estrés al tejido foliar por la degradación de las hojas, que inducen la biosíntesis de lignina y de suberina en hojas, lo que hace que las plantas resistan ante un ataque de la roya, lo que sugiere un posible mecanismo de resistencia mediante la síntesis de éstos compuestos y la

actividad de éstas enzimas modulado por la micorriza arbuscular (Honorato *et al.*, 2015; Monteiro *et al.*, 2016).

En Veracruz, México, se realizó una investigación con HMA con el objetivo de identificar a las poblaciones de estos hongos en las plantas de café de la variedad Típica con y sin signos de infección por roya; se identificaron 14 géneros y 37 especies de HMA, con mayor porcentaje de colonización de raíces y densidad de esporas en plantas sin signos de infección (Herrera *et al.*, 2019).

Trejo *et al.* (2018), comprobaron el efecto bioprotector de los HMA, en plantas de café de la variedad Garnica en etapa mariposa, al inocular siete consorcios de HMA nativos de café. Doscientos días después de la inoculación infectaron las plantas con el nematodo fitopatógeno *Meloidogyne incognita* (suspensión con 1500 juveniles) a 3 cm de la base de la planta. Aunque el volumen radical de las plantas inoculadas con el patógeno disminuyó hasta en un 70.93%, sin embargo, las plantas en la parte área de las plantas logró mantener un excelente desarrollo fisiológico, similar a las que no tenían el patógeno; después de siete meses de haber inoculado los nematodos no se descubrió presencia de agallas en las raíces de los tratamientos infectados, por lo que concluyeron que su destrucción fue evidente.

Por su parte Hernández *et al.* (2020), enfocados en corroborar el efecto bioprotector de los HMA contra *Phoma costarrisensis*, hongo que infecta las hojas jóvenes y ocasiona la reducción del tejido fotosintético, utilizo dos inóculos micorrízicos: *Rhizophagus aggregatus* y un consorcio (*Glomus claroides*, *Rhizophagus diaphanus* y *Paraglomus albidum*), en plántulas de café de las variedades Catuaí, Garnica, Caturra y Catimor, para determinar la mejor simbiosis entre planta-hongo; evaluó contenido de fosforo en las plantas, altura, índice de eficiencia de la micorrización en la sanidad de la planta y materia seca. En este estudio se demostró que la producción de plantas inoculadas, con el consorcio generó los incrementos más altos en altura de la planta y materia seca en la variedad Garnica, el contenido de fósforo en la variedad Catimor y que las variedades Garnica, Catimor y Caturra, presentaron los más bajos índices de daño por el hongo fitopatógeno. Estos resultados resaltan la importancia de la utilización de los HMA en los cultivos de interés económico, ya que mejoran el estado nutricional de las plantas, compiten con los patógenos por los nutrientes, mejoran el

desarrollo anatómico y fisiológico de las raíces y aumentan la resistencia al estrés provocado por plagas y enfermedades que pueden provocar pérdidas parciales o totales en los cultivos (Ortega *et al.*, 2015).

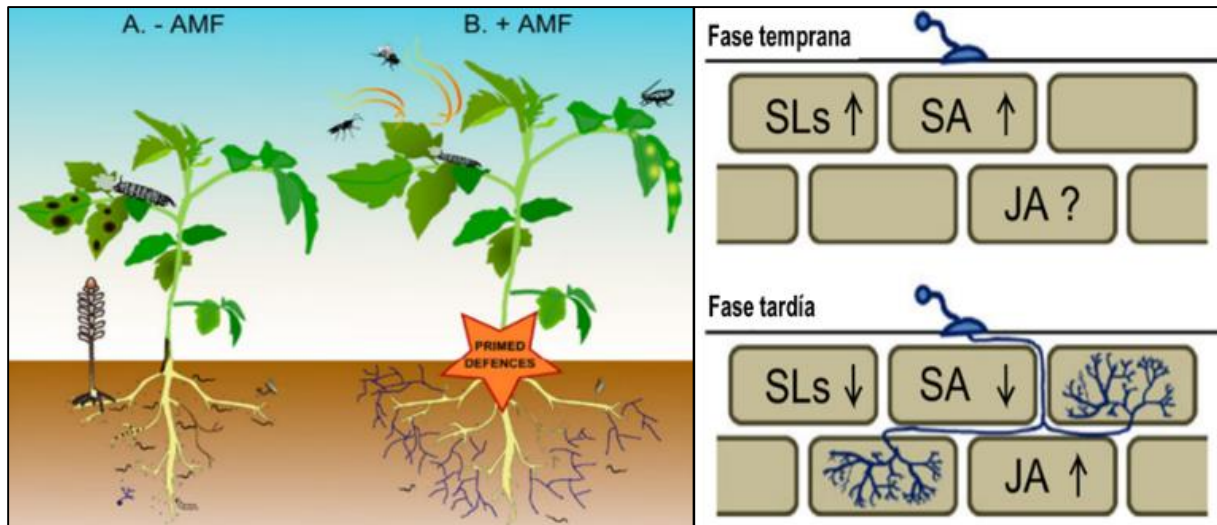


Figura 4. La utilización de los HMA en los cultivos aumenta y activan SLs= Estrigolactona, SA= Ácido Salicílico y JA= Ácido jasmónico (Jung *et al.*, 2012).

Se tiene que resaltar que el cultivo del café es micotrófico, es decir, para su desarrollo vegetativo y productivo depende de la presencia de los HMA en el suelo y de la formación de la micorriza en sus raíces, por lo tanto, se les debe ver como una oportunidad viable de investigación científica dirigida a identificar y conocer la función de los consorcios de HMA nativos de su rizosfera, para definir si son los mejores candidatos para mejorar los sistemas de manejo del café y para producirlos y ofertarlos a través de productos comerciales accesibles para los productores de café orgánico, ya que los sistemas de producción orgánica van en aumento en todos los estados cafetaleros de México (Hernández *et al.*, 2020).

También hay que señalar que se entenderá como consorcio de HMA a la asociación y propagación de diferentes especies de estos hongos, que interactúan en conjunto para lograr un objetivo en común, de acuerdo con lo señalado por diferentes autores (Cabreres *et al.*, 2016, Del Aguilar *et al.*, 2018, Trejo *et al.*, 2018 y Hernández *et al.*, 2020).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del área de estudio

Esta investigación se realizó en cuatro lugares diferentes debido a las diversas actividades que se realizaron.

Obtención de las fuentes de inóculo

Para obtener los HMA que servirían como fuente del inóculo y realizar su multiplicación de los HMA, se realizaron muestreos de suelos rizosféricos de café, en las principales zonas cafetaleras del estado de Chiapas, considerando a los municipios de La Concordia y Montecristo de Guerrero, pertenecientes a la Región VI Frailesca; se seleccionaron a estos municipios por tener la certeza de trabajar con productores de café orgánico certificado y especial por su excelente calidad de taza.

Obtención de los consorcios de HMA

La multiplicación de los consorcios de los HMA se realizó en plantas trampas a nivel invernadero, en el Laboratorio de Fitopatología de la Unidad de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ).

Identificación de las especies de los HMA de las fuentes de los inóculos y los consorcios.

Después de la obtención de las muestras de suelo y de los consorcios de HMA, se determinaron taxonómicamente las especies de los HMA, en las instalaciones del Laboratorio de biología molecular del Centro de Investigación en Genética y Ambiente, de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Conducción del experimento

La evaluación de los consorcios de HMA con plantas de café bajo condiciones de vivero, se llevó a cabo en un vivero de café tecnificado, ubicado en la Col. Presidente Echeverría, Mpio. de Venustiano Carranza, Chiapas, México.

La colonia pertenece a la región IV Los Llanos, del estado de Chiapas, México. Limita al norte con Totolapa, Nicolás Ruíz y Teopisca, al noreste con Amatenango del Valle,

al este con Las Rosas y Socoltenango, al sur con La Concordia, al oeste con Villa Corzo y Chiapa de Corzo, al noroeste con Acalá. Se encuentra en las coordenadas GPS: Longitud (dec): -92.668611 y Latitud (dec): 16.335833. La localidad se encuentra a una mediana altura de 540 metros sobre el nivel del mar. El clima es cálido subhúmedo con lluvias en verano, Figura 5. La vegetación es de selva baja, con una precipitación media anual es de 1, 100 mm – 1, 500 mm y una temperatura media anual de 16 - 26°C (INEGI, 2014).

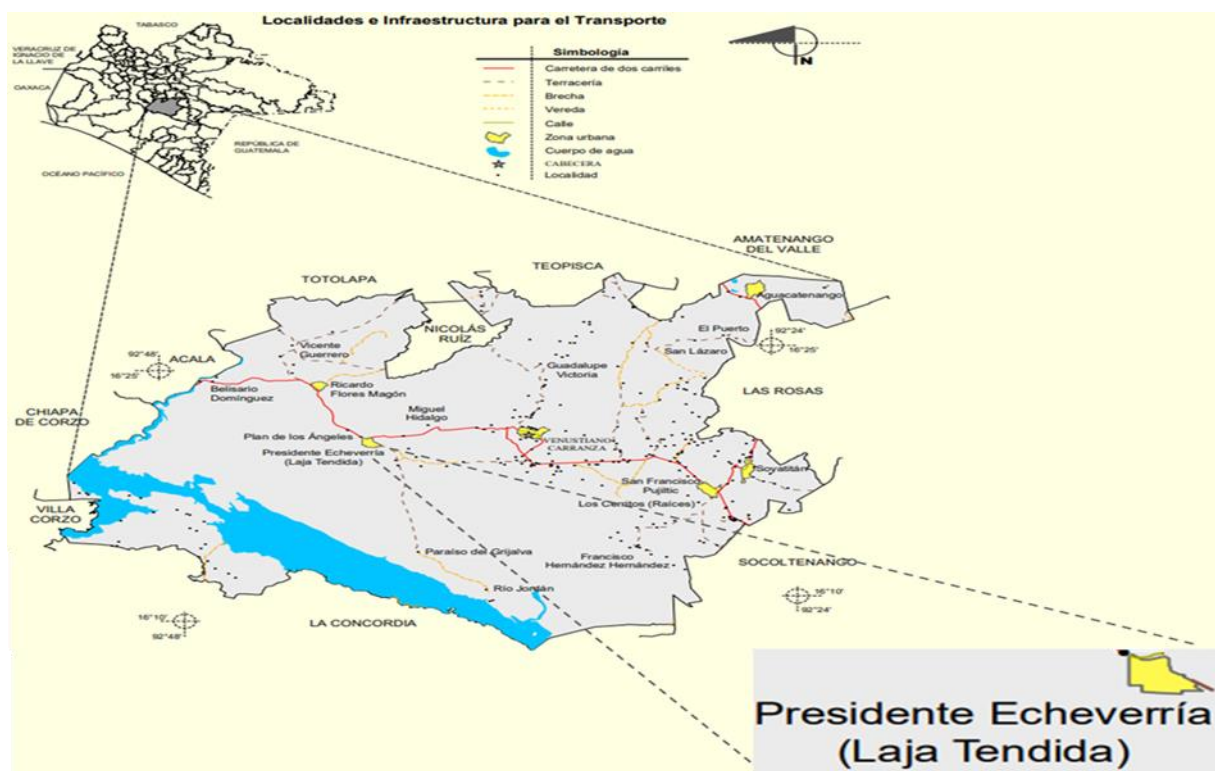


Figura 5. Ubicación del vivero de café en la Col. Presidente Echeverría, municipio de Venustiano Carranza, Chiapas.

3.2 Metodología experimental

El trabajo de investigación se organizó en cuatro fases:

- 1.- Muestreo de suelos en cafetales para la obtención de los inóculos base de HMA
- 2.- Identificación de las diferentes especies de los HMA asociadas a la rizosfera del del café orgánico y el análisis físico químico de los suelos de procedencia de los HMA.
- 3.- Multiplicación de los HMA en los consorcios y cuantificación de esporas.

4.- Evaluación del efecto de los consorcios de los HMA sobre el crecimiento y la bioprotección hacia la roya en plantas de café en condiciones de vivero.

3.2.1 Fase I: Muestreo de suelos en cafetales para la obtención de los inóculos base de HMA

Los muestreos se realizaron en cafetales orgánicos del municipio de Montecristo de Guerrero, Chiapas., se encuentran a una altitud entre 800 y 2 800 m snm., con una temperatura media anual de 14 – 24°C, con precipitaciones de 2, 500 – 4, 000 mm anuales y en el municipio de La Concordia, Chiapas, se encuentran a una altitud entre 400 y 2, 500 m snm, con una temperatura media anual de 14 – 26°C, con precipitaciones de 1, 000 – 4, 000 mm (INEGI, 2008). Con base en el informe del ICAFE (2011), ambos municipios cuentan con las condiciones ideales para producir café de calidad.

Los muestreos de suelos se realizaron en la temporada de lluvia, en el mes de octubre del año 2019 y en la temporada seca, en el mes de mayo de 2020, se seleccionaron dos localidades de cada municipio; en cada localidad, se seleccionó un predio con una variedad de café considerando las variedades: Bourbon (Br) y Sarchimor (S) (Cuadro 1). Se consideraron estas variedades ya que, en el certamen de taza de excelencia en México, obtuvieron los mejores porcentajes en taza. (Alliance For Excellence, 2018).

Cuadro 1. Variedades de café orgánico, ubicadas en la región VI Frailesca, Chiapas.

Municipio	Localidad	Altitud (m snm)	Variedad de café	Productor
La Concordia	Toro Bellavista (TB-S)	1088	Sarchimor	Mauro González G.
	San Francisco (SF-BR)	1565	Bourbon	Aurelio Guzmán M.
Montecristo de Guerrero	Laguna de Cofre (LC-S)	1783	Sarchimor	Edgar Bravo S.
	Toluca (TO-BR)	1415	Bourbon	Leyvi Celi Morales C.

Las muestras de suelos se obtuvieron de la zona rizosférica de las plantas del café; se tomaron cuatro submuestras por planta de café, a la altura del área de goteo, a una profundidad de los 0 a los 20 cm, posteriormente las submuestras fueron mezcladas

para hacer una muestra compuesta de aproximadamente 1 kg por planta, se muestrearon 5 plantas por parcela (Trinidad, 2014).

El muestreo utilizado fue sistemático dirigido, tomando los cinco puntos en forma de "W", muestreando plantas vigorosas, sanas y sin síntomas de roya de café, ya que, en una investigación de Herrera *et al.* (2019), demostraron que existe mayor colonización micorrízica en una planta de café sin roya, que una con roya.

Después de realizar los muestreos se colocaron en un lugar protegido durante 15 días para secarlas a temperatura ambiente y nuevamente fueron etiquetadas en bolsas de polietileno para ser transportadas a los laboratorios correspondientes para ser analizadas. En el laboratorio dichas muestras fueron colocadas en botes plásticos de 1 L de capacidad, etiquetadas y almacenadas a temperatura ambiente en oscuridad hasta su posterior uso (Trinidad, 2014).

3.2.2 Fase II: Identificación de las diferentes especies de los HMA asociadas a la rizosfera del del café orgánico y el análisis físico químico de los suelos de procedencia de los HMA.

La identificación de las especies nativas de los HMA presentes en el cultivo de café y en los consorcios propagados, se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular del Centro de Investigación en Genética y Ambiente, de la Universidad Autónoma de Tlaxcala., donde se realizaron las siguientes actividades.

Identificación taxonómica de las especies de los HMA

La identificación taxonómica de las especies se realizó con base en la morfología de las esporas. Para ello, se tomarán 50 g de suelo seco de la muestra compuesta de los cafetales orgánicos para extraer las esporas de HMA mediante la técnica de tamizado húmedo, decantación y centrifugación con gradiente de sacarosa (60%, p:v) (Figura 6) (Gerdemann y Nicolson, 1963). El método consistió en homogenizar 50 g de suelo en 1 L de agua, dejando reposar la mezcla por 10-15 segundos y realizando el tamizado en cuatro tamices: 600, 150, 75 y 45 μm de apertura de malla (Sánchez, 2015).

El material retenido en el tamiz de 500 μm de apertura de malla se vertió en una caja de Petri y se revisó directamente bajo un microscopio estereoscópico. El del tamiz de 45 μm se colocó en los tubos de centrifuga donde previamente se preparó el gradiente

de sacarosa; se centrifugo a 1500 rpm por 3 minutos, al termino, el sobrenadante se vertió sobre un tamiz de 40 µm de apertura de malla, se lavó con abundante agua destilada y se vertió en una caja de Petri para extraer las esporas (Brundrett *et al.*, 1996).

Las esporas fueron extraídas con la ayuda de un estereomicroscopio y se colocaron en un portaobjetos clasificándolas por grupos, de acuerdo con las características de color y tamaño, mismos que se registraron en una base de datos. Posteriormente a cada grupo de esporas se le agregó una gota de alcohol polivinílico en lactoglicerol (PVLG) mezclado con Reactivo de Melzer (1:1 v/v), posteriormente se cubrieron con un portaobjetos para observar al microscopio compuesto; se registró el color de las esporas previo a la colocación en el montaje (Trinidad, 2014).

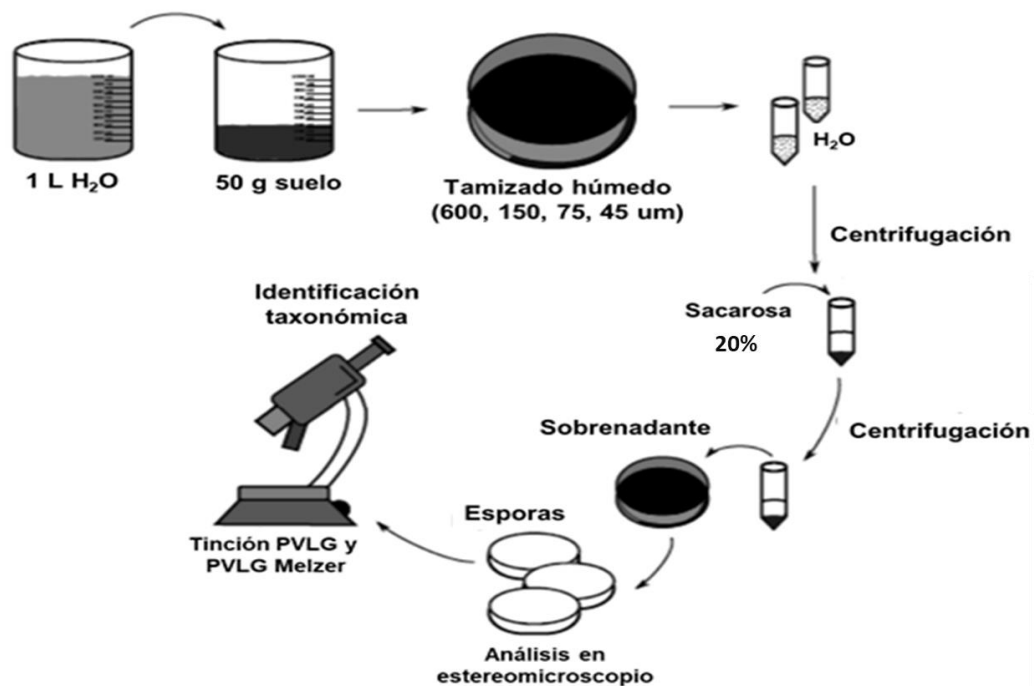


Figura 6. Esquema de aislamiento e identificación de los HMA.

Las muestras se cubrieron con un cubreobjetos y se observaron con un microscopio óptico (Zeiss) para observar los detalles de la pared de las esporas (colores, grosor, ornamentación, reacción al Melzer, adherencia entre estratos), con base en la metodología desarrollada por Schenck y Pérez (1990). Las esporas de las especies y detalles de las esporas se documentaron fotográficamente con una cámara Axiocam ERc 5s y el software ZEN 2.3 (Blue edition) Carl Zeiss Microscopy GmbH. 2011. Copy Right 2002-2011.

La identidad de las esporas se determinó por comparación de las características morfológicas (diámetro, color y agrupamiento; presencia y forma de las hifas de sostén; características de los estratos de la pared esporal) (Figura 7), observadas, contra las descritas para las especies de HMA que se encuentran en la International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (www.invam.wvu.edu/) y las descripciones originales de especies publicadas, obtenidas de la página electrónica Glomeromycota Taxonomy (www.amf-phylogeny.com). La nomenclatura de las especies se basa en la propuesta de Schüßler *et al.* (2001) y Schüßler y Walker. (2010).

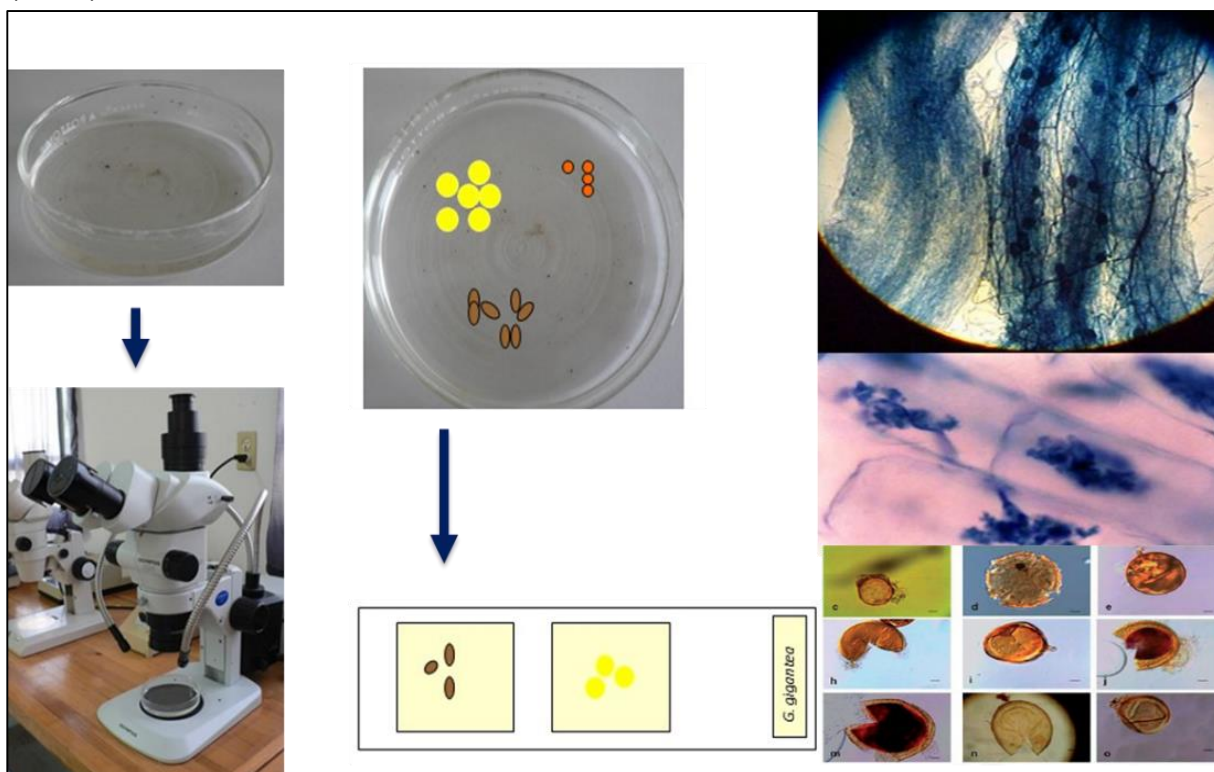


Figura 7. Identificación de especies de hongos micorrizicos arbusculares.

Análisis fisicoquímicos de los suelos

Para tener una mayor comprensión sobre las especies que fueron identificadas en cada muestra de suelo de los cafetales orgánicos, se realizaron los análisis físicos y químicos de los suelos recolectados de la rizosfera del café; y se realizaron en el Laboratorio de Suelos, del Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), ubicado en San Cristóbal de Las Casas. Los análisis incluyeron las siguientes características: fósforo (P), nitrógeno amoniacal (NH_4^+), potasio (K), pH (H_2O), materia orgánica y la clasificación textural del suelo.

La determinación de la materia orgánica del suelo se realizó a través del método AS-07, de Walkley y Black; para cuantificar el nitrógeno, se aplicó el método AS-25, por digestión; el fósforo aprovechable se determinó por medio del método AS-10 de acuerdo con el procedimiento de Olsen y colaboradores; para el potasio se realizó el método AS-19. La determinación de la textura del suelo se realizó por el procedimiento de Bouyoucos, a través del método AS-09; la determinación del pH, se realizó a través del método electrométrico AS-02 (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2002), todos estos métodos son ampliamente utilizados en estudios de fertilidad de suelos y están descritos y se rigen bajo la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, de salinidad y de clasificación de suelos (*Op cit.*).

3.2.3 Fase III: Multiplicación de los HMA en los consorcios y cuantificación de esporas

Las muestras de suelo se llevaron a las instalaciones del Laboratorio de Fitopatología de la Unidad de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ), donde se realizó la multiplicación encaminada a la obtención de consorcios de HMA nativos del café.



Figura 8. Multiplicación de los HMA en plantas trampa.

Las micorrizas al ser microorganismos biotrofos obligados, necesitaron de plantas vivas para su multiplicación (Ruscitti, 2017), por lo tanto, para esta multiplicación se emplearon como plantas trampa cempasúchil (*Tagetes erecta*), pasto bermuda

(*Cynodon dactylon*) y alfalfa (*Medicago sativa*), para promover una mayor diversidad de asociación de las esporas con las plantas, se trabajó bajo condiciones de invernadero, el sustrato de propagación estuvo compuesto por: suelo, arena y agrolita (60:30:10), en macetas de plástico polipropileno negro con capacidad de 2 L (Montoya, 2014), en los cuales se adicionaron 500 g del suelo de los cafetales orgánicos para ser propagados en cada maceta, (Figura 8) (Sánchez, 2015). Se consideraron distintos consorcios de HMA propagados durante cinco meses, tiempo requerido para la cosecha de esporas.

La propagación inicio el 15 de agosto del año 2020 y finalizó el 15 de enero del 2021. Se obtuvieron dos consorcios de HMA nativos; considerando el consorcio Bor proveniente de la variedad de café Bourbon y el consorcio Sar, proveniente de la variedad de café Sarchimor, ambos cafetales orgánicos del segundo anillo de amortiguamiento de la reserva el Triunfo del municipio de Montecristo de Guerrero en época de seca.

Cuantificación de esporas de los HMA

Para conocer la densidad de esporas de HMA por cada gramo de suelo en las macetas de propagación de los consorcios y definir las dosis de aplicación para el desarrollo del experimento (Figura 8), después de los cinco meses de propagación de los HMA-N, en las plantas trampa se realizó la identificación taxonómica de las especies de los HMA utilizando las técnicas anteriormente descritas y la cuantificación de las esporas de los HMA, esto se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Fitopatología de la Unidad de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ), de acuerdo con las siguientes actividades:

a) Conteo de esporas de los HMA de las plantas trampa

La cuantificación de esporas se realizó por conteo en caja de Petri y extrapolación, de acuerdo con el procedimiento descrito por Carballar *et al.* (2020).

1. Extraer las esporas a partir de una muestra de peso o volumen conocido y colocarlas con agua destilada en una caja de Petri, cuadrículada en el fondo.

2. Colocar la caja Petri bajo un microscopio estereoscópico a bajo aumento 3-4X. Seleccionar al azar 10 cuadrados de la cuadrícula y contar la totalidad de las esporas contenidas en ellos. Registrar el dato.
3. Revolver suavemente el contenido de la caja, para distribuirlo homogéneamente.
4. Repetir los pasos 2 y 3, dos veces más para tener tres conteos de la misma muestra.
5. Contar el número de esporas presentes en 10 cuadrados y aplicar una regla de tres para estimar la cantidad total de esporas contenidas en el número total de cuadrados de la caja.
6. Contar únicamente las esporas turgentes, brillantes y completas presentes en el fondo de la caja de Petri; las que se presuponen con contenido, lo que se usa como evidencia indirecta de su viabilidad.

b) Después de cinco meses de propagación de los HMA con las plantas trampa se realizó la identificación taxonómica de las especies de los HMA utilizando las técnicas anteriormente descritas.

3.2.4 Fase IV: Evaluación del efecto de los consorcios de los HMA sobre el crecimiento y la bioprotección hacia la roya en plantas de café en condiciones de vivero.

La evaluación de los efectos de los consorcios HMA con plantas de café bajo condiciones de vivero, se realizó en un vivero de café tecnificado, ubicado en la Col. Presidente Echeverría, Mpio. de Venustiano Carranza, Chiapas, México.

Variedades de café

Se emplearán dos variedades de café: Bourbon (Br), y Sarchimor (S).

Inoculación con consorcios de HMA

Las variedades de café utilizadas para este experimento fueron inoculadas con 200 esporas de HMA, por cada planta al momento del trasplante, colocadas directamente sobre la raíz. Se tomó esta decisión ya que Trinidad (2017) realizó una investigación donde aplicó 100 esporas para controlar *Fusarium oxysporum* en el cultivo de *Agave cupreata*, donde en los tratamientos con HMA disminuyó la severidad de la marchitez

del agave con un daño promedio de 33 % con respecto al testigo (sin HMA) que presentó daños de 74 %. El número de esporas que se utilizaron en esta investigación se consideró adecuado debido a que además de los resultados obtenidos por Trinidad (2017), Hernández-Cuevas y García-Sánchez (2008), recomendaron utilizar para la inoculación, por lo menos 60 esporas por planta.

El sustrato que se empleó en el experimento estuvo compuesto por: suelo, arena y agrolita (proporción en volumen 60-30-10), fue esterilizado en bolsas de polietileno color negro con ocho perforaciones con capacidad de 2 L de sustrato en autoclave a 120 °C durante 6 h con la finalidad de eliminar patógenos y microorganismos benéficos que puedan afectar los resultados (Montoya, 2014).

Inoculación de esporas de *Hemileia vastatrix*

Setenta y cinco días después de la inoculación con los HMA, momento en el cual las plantas presentaron una colonización micorrízica mayor al 50% (Reyes *et al.*, 2016), se les inocularon esporas de roya (*H. vastatrix*), con la finalidad de determinar el efecto de los HMA contra esta enfermedad en las plantas de café. Las esporas de la roya provinieron de plantas en producción de cafetales orgánicos; fueron colectadas 28 h previas a la inoculación en el experimento. A cada planta de los tratamientos infectados se le inóculo 1 mL de una suspensión de 10^5 esporas / mL⁻¹, se eligió esta dosis con base en un estudio realizado por Gómez *et al.* (2017), quienes determinaron que esta dosis fue efectiva para que *H. vastatrix* enferme plantas de café. La inoculación se realizó en el haz y en el envés de las hojas superiores de las plantas de café de acuerdo con lo indicado por Pérez (2016).

Evaluación de los HMA sobre las plantas de café

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar bajo un arreglo trifactorial 2x4x2: factor variedad de café (2 niveles: Bourbon y Sarchimor); factor HMA (4 niveles: 2 consorcios HMA nativos, 1 HMA monoespecie "*Funneliformis mosseae*" y sin HMA) y factor Roya (2 niveles: con y sin roya). Se consideró como unidad experimental a una maceta con una planta de café. Obteniendo 16 tratamientos (Cuadro 2), con seis repeticiones por tratamiento, por lo tanto, en esta investigación se trabajó con 96 unidades experimentales.

Cuadro 2. Descripción del diseño de los tratamientos en el experimento de café, HMA y roya.

Tratamiento	Clave	Tratamiento (Variedad + Nivel de micorrización + Presencia de roya)
T1	Br.Cbor.Cr.	Bourbon + Consorcio Bor + Con roya
T2	Br.Cbor.Sr.	Bourbon + Consorcio Bor + Sin roya
T3	Br.Csar.Cr.	Bourbon + Consorcio Sar + Con roya
T4	Br.Csar.Sr.	Bourbon + Consorcio Sar + Sin roya
T5	Br.Fmos.Cr.	Bourbon + <i>Funneliformis mosseae</i> + Con roya
T6	Br.Fmos.Sr.	Bourbon + <i>Funneliformis mosseae</i> + Sin roya
T7	Br.Shma.Cr.	Bourbon + Sin HMA + Con roya
T8	Br.Shma.Sr.	Bourbon + Sin HMA + Sin roya
T9	Sar.Cbor.Cr.	Sarchimor + Consorcio Bor + Con roya
T10	Sar.Cbor.Sr.	Sarchimor + Consorcio Bor + Sin roya
T11	Sar.Csar.Cr.	Sarchimor + Consorcio Sar + Con roya
T12	Sar.Csar.Sr.	Sarchimor + Consorcio Sar + Sin roya
T13	Sar.Fmos.Cr.	Sarchimor + <i>Funneliformis mosseae</i> + Con roya
T14	Sar.Fmos.Sr.	Sarchimor + <i>Funneliformis mosseae</i> + Sin roya
T15	Sar.Shma.Cr.	Sarchimor + Sin HMA + Con roya
T16	Sar.Shma.Sr.	Sarchimor + Sin HMA + Sin roya

Variables de respuestas evaluadas

Por cada unidad experimental, después de la inoculación con los HMA, se midió el desarrollo de la planta cada 30 días, considerando; la altura, diámetro del tallo y número de hojas, después de los 90 DDI, se evaluaron a cada 30 días las variables fitopatológicas de la planta: la severidad de la roya, el número de hojas con pústulas, el número de pústulas por hojas y el porcentaje de la incidencia de la roya, a los 150 DDI, se midió la longitud de la raíz, el volumen radical, el peso seco de raíz, el área foliar total, el volumen de la parte aérea, la altura, el diámetro del tallo, el número de hojas y todas las variables fitopatológicas. Para medir la altura de las plantas en cm y el diámetro del tallo en mm se utilizó un vernier; el conteo de las hojas de cada unidad experimental se realizó de manera manual considerando una hoja completamente formada (Zitácuaro y Aparicio, 2004).

En este experimento, para definir la severidad de daño por la roya, se utilizó la escala “evaluación de la severidad de roya del cafeto en planta” (Figura 9), emitida por SENASICA (2018); para el número de hojas con pústulas, se contabilizaron de manera visual las hojas que presentaban pústulas con roya; para determinar el número de pústulas por hojas, se contabilizaron todas las hojas con roya y todas las pústulas por hoja, el total de pústulas se dividió entre el número de hojas infestadas. La incidencia de roya, se determinó al finalizar la investigación a los 150 DDI. El cálculo del porcentaje incidencia de roya se realizó usando la siguiente fórmula (Romero, 2019).

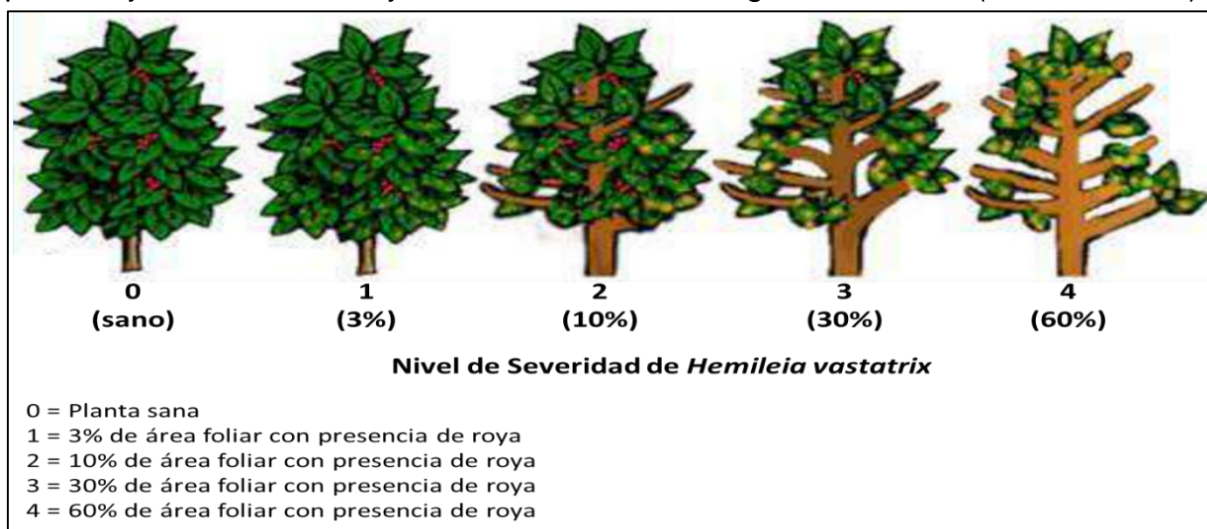


Figura 9. Escala para evaluación de la severidad de roya del cafeto en planta (SENASICA, 2018).

$$\text{Porcentaje Incidencia} = \frac{\text{Número de hojas con roya}}{\text{Número total de hojas}} \times 100$$

Para medir la longitud de la raíz principal de las plantas, se utilizó un flexómetro, para el volumen radical y el de la parte aérea, se utilizaron probetas graduadas con capacidad de 1L, para el peso fresco y seco de la raíz se obtuvo con ayuda de una balanza analítica (Montoya, 2014), se midió el área foliar total considerando todas las hojas de las plantas (Trinidad, 2014).

Análisis estadísticos

Los datos obtenidos de la evaluación de las distintas variables de respuesta fueron sometidos a un análisis de varianza multifactorial y a una prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ($P \leq 0.05$), mediante el programa Statgraphics Centurión (StatPoint Inc., 2005).

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Análisis fisicoquímico de los suelos de procedencia de los HMA

Para tener un mayor conocimiento de los sitios de muestreos y del contenido de los nutrientes esenciales, se realizó un análisis físico-químico. Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de suelos del Colegio de la Frontera Sur “ECOSUR” obteniendo los siguientes resultados (Cuadro 3):

LC-S (Laguna del Cofre-Sarchimor-Montecristo): bajo en fosforo, muy alto en materia orgánica, pH: ácido, alto en nitrógeno, alto en potasio, textura del suelo franco.

TO-BR (Toluca-Bourbon-Montecristo): medio en fosforo, medio en materia orgánica, pH: ácido, medio en nitrógeno, bajo en potasio, textura del suelo franco.

TB-S (Toro Bellavista-Sarchimor-La concordia): muy alto en fosforo, muy bajo en materia orgánica, pH: ácido, bajo en nitrógeno, bajo en potasio, textura del suelo franco-arenoso.

SF-BR (San Francisco-Bourbon-La concordia): bajo en fosforo, medio en materia orgánica, pH: neutro, medio en nitrógeno, bajo en potasio y textura del suelo franco-arenoso.

La mayoría de los sitios de muestreo de los cafetales orgánicos presentaron un pH ácido, Mosquera *et al* (2016), mencionaron que la gran mayoría de los suelos de los cafetales son ácidos ya que realizaron análisis químicos en diferentes zonas en cafetales obteniendo un (pH de 4.5 a 4.9), debido a la descomposición de la materia orgánica, la liberación de H^+ por las raíces cuando absorben Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^+ y la oxidación del azufre, para el cultivo del café los niveles idóneos de pH van de 5.0 a 5.5. (CENICAFE, 2016). De manera general, los sitios de los muestreos se encuentran en buenas condiciones nutrimentales sobre todo en los sitios LC-S y TO-BR, ambos del municipio de Montecristo de Guerrero, Chiapas, ya que cuentan con los niveles adecuados para el óptimo desarrollo del cultivo del café; en etapa de producción, los nutrientes más demandados son el nitrógeno (mejora la biomasa de la planta) , el potasio (mejora el color y la calidad del grano) y el fosforo (promotor de floración y de desarrollo del fruto) (CEDICAFE, 2019).

Cuadro 3. Características fisicoquímicas del suelo rizosférico de *Coffea arabica* de las muestras de la época seca de los cuatro sitios de muestreo.

Sitios	Características fisicoquímicas								
	Fósforo disponible (mg/kg)	Materia orgánica (%)	pH H ₂ O	Nitrógeno total (%)	Potasio disponible (cmol/kg)	Arena (%)	Arcilla (%)	Limo (%)	Nombre textural
TB-S	25.05	3.8	5.05	0.19	0.29	66.4	16.9	16.7	Franco arenoso
SF-BR	6.25	8.3	6.05	0.52	0.21	40.4	30.9	28.7	Franco arcilloso
LC-S	6.53	19.8	5.47	1.09	0.68	51.1	14.9	34	Franco
TO-BR	11.06	8.3	5.37	0.57	0.21	33.1	24.9	42	Franco

TB-S: Toro Bellavista-Sarchimor; SF-BR: San Francisco-Bourbon; LC-S: Laguna del Cofre-Sarchimor; TO-BR: Toluca-Bourbon

Nitrógeno: muy bajo (menor de 0.15), bajo (0.16 – 0.30), medio (0.31 – 0.80), alto (0.81 – 1.2), muy alto (mayor de 1.3)

Fósforo: muy bajo (menor de 5.5), bajo (5.51 – 11.0), medio (11.1 – 18.0), alto (mayor de 18.1 – 22.0), muy alto (mayor de 22.1)

Potasio (Cmol/kg): muy bajos (menor de 0.2), bajo (0.21-0.3), medio (0.31-0.6), alto (mayor de 0.61 – 0.8), muy alto (mayor de 0.81)

Materia orgánica: muy bajos (menor de 4.0), bajo (4.1-6.0), medio (6.1-10.9), alto (11.0-16.0), muy alto (mayor de 16.1),

pH: fuertemente ácido (muy bajo) (menor de 5.0), neutro (medio) (6.6-7.3), fuertemente alcalino (muy alto) (mayor de 8.6),

Textura media: franco, franco arcillo arenoso, franco arcillo limoso, franco arcilloso, franco limoso

Textura fina o pesado: arcilloso, arcillo limoso, arcillo arenoso, limosos

Textura gruesa: arenoso, franco arenoso, areno franco

4.2 Riqueza de especies de HMA asociados a la rizósfera de *Coffea arabica*, en las variedades Bourbon y Sarchimor orgánico

En el cultivo del café en las variedades Sarchimor y Bourbon, se identificaron en cuatro plantaciones y en dos épocas del año a cinco familias, diez géneros y veinticinco especies de HMA nativos, dentro de las familias de los HMA, se encontraron: *Acaulosporaceae*, *Ambisporaceae*, *Claroideoglomeraceae*, *Glomeraceae* y *Gigasporaceae*. Las especies de HMA que prevalecieron con mayor frecuencia en todos los sitios de muestreo en ambas variedades de café orgánico fueron; *Acaulospora scrobiculata*, *Claroideoglopus etunicatum* y *Funneliformis geosporus* (Cuadro 4). Estos resultados son muy similares a los obtenidos en la investigación de Bertolini *et al.* (2020), quienes al estudiar a los HMA nativos en plantaciones cafetaleras alrededores del volcán Tacaná de la región del Soconusco del estado de Chiapas, identificaron diez géneros y veintisiete especies de HMA, y *Ambispora reticulata* fue un nuevo registro para Chiapas y México. Estas identificaciones se realizaron en cinco sitios de plantaciones diferentes a las estudiadas aquí, lo que explicaría las diferencias en cuanto a las especies más frecuentes, sin embargo, estas dos pertenecen a los mismos géneros (*Acaulospora* y *Claroideoglopus*).

En contraste, en Brasil, identificaron HMA nativos del cultivo del café y obtuvieron un total de 42 especies, distribuidas en nueve géneros y seis familias. Las especies pertenecientes a los géneros *Acaulospora* (17), *Glomus* (16), *Ambispora* (1), *Archaeospora* (1), *Dentiscutata* (2), *Gigaspora* (1), *Paraglopus* (1), *Rhizophagus* (1) y *Scutellospora* (2) fueron identificados por un análisis molecular mediante PCR-DGGE (Prates *et al.*, 2019). a diferencia del procedimiento taxonómico empleado en este trabajo y en el de Bertolini *et al.* (2020), que trabajaron con base en caracteres morfológicos. En este mismo sentido, en Perú se identificaron 31 especies de HMA, en suelos de doce localidades de plantaciones de café; uno de los HMA de esa región se reportó como especie nueva (*Funneliglopus sanmartinense*) (Arteaga, 2019). Al igual que en México, en muchos países se han dado a la tarea de iniciar investigaciones relacionadas con el cultivo del café y las asociaciones simbióticas con los HMA, ya que este cultivo resulta ser una planta altamente micotrófica y la búsqueda de especies de HMA nativos con posibilidades de aplicarse como biofertilizantes en la agricultura representa es una opción sustentable (Hernández *et al.*, 2020).

Cuadro 4. Diversidad de especies de HMA encontradas en el suelo rizosférico de *Coffea arabica*, en distintos sitios y épocas de muestreo (seca y lluvia) en los municipios de La Concordia y Montecristo de Guerrero, Chiapas, México.

Hongo Micorrízicos Arbuscular	Sitios de muestreo de HMA							
	TB-S		SF-BR		LC-S		TO-BR	
	EL	ES	EL	ES	EL	ES	EL	ES
Familia: Acaulosporaceae								
<i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Janos				+				
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & N.C. Schenck				+		+		
<i>Acaulospora denticulata</i> Sieverd. & S. Toro						+		+
<i>Acaulospora minuta</i> Oehl, Tchabi, Hountondji, Palenz., I.C. Sánchez & G.A. Silva						+		+
<i>Acaulospora rehmii</i> Sieverd. & S. Toro								+
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	+	+	+			+		+
<i>Acaulospora</i> sp. 1				+				
<i>Acaulospora</i> sp. 3								+
<i>Acaulospora</i> sp. 4				+				
Familia: Ambisporaceae								
<i>Ambispora appendicula</i> C. Walker						+		
<i>Ambispora reticulata</i> Oehl & Sieverd.				+				+
Familia: Claroideoglomeraceae								
<i>Claroideoglomus claroideum</i> C. Walker & Schuessler	+					+		+
<i>Claroideoglomus etunicatum</i> C. Walker & Schuessler		+	+	+		+		+
Familia: Glomeraceae								
<i>Funneliformis geosporus</i> C. Walker & Schuessler	+	+		+	+	+	+	+
<i>Funneliformis mosseae</i> C. Walker & Schuessler						+		+
<i>Glomus glomerulatum</i> Sieverd.				+				

Cuadro 4. (Continuación)

Hongo Micorrízicos Arbuscular	Sitios de muestreo de HMA							
	TB-S		SF-BR		LC-S		TO-BR	
	EL	ES	EL	ES	EL	ES	EL	ES
Familia: Glomeraceae								
<i>Glomus spinuliferum</i> Sieverd. & Oehl			+			+		+
<i>Glomus trufemii</i> B.T. Goto, G.A. Silva & Oehl						+		
<i>Rhizophagus fasciculatus</i> C. Walker & Schuessler			+					
<i>Rhizophagus intraradices</i> C. Walker & Schuessler				+		+		+
<i>Sclerocystis sinuosa</i> Gerd. & B.K. Bakshi		+						
<i>Septoglomus constrictum</i> Sieverd., G. A. Silva & Oehl			+					
Familia: Gigasporaceae								
<i>Gigaspora candida</i> Bhattacharjee, Mukerji, J.P. Tewari & Skoropad					+	+		
<i>Gigaspora gigantea</i> Gerd. & Trappe			+			+		+
<i>Scutellospora dipurpurescens</i> J.B. Morton & Koske						+		

* TB-S: Toro Bellavista-Sarchimor; SF-BR: San Francisco-Bourbon; LC-S: Laguna del Cofre-Sarchimor; TO-BR: Toluca-Bourbon; EL: Época de lluvia; ES: Época de seca; +: Presencia de la especie.

Las especies de los HMA nativos que predominaron en la variedad de café Sarchimor fueron: *A. scrobiculata*, *A. minuta*, *F. geosporus* y *C. etunicatum*. Para la variedad Bourbon fueron: *A. scrobiculata*, *C. etunicatum*, *Ambispora reticulata*, *Glomus spinuliferum*, *Rhizophagus intraradices* y *Gigaspora gigantea* (Cuadro 4).

Los resultados que reportaron Trejo *et al.* (2011) para plantaciones de café de la variedad típica, en Veracruz, son muy similares, ya que identificaron: *A. scrobiculata*, *A. foveata*, *A. mellea*, *A. spinosa*, *F. geosporus*, *G. gigantea* y *Septoglomus constrictum* y en la variedad Caturra identificaron; *A. mellea*, *Gigaspora* sp., *F. geosporus* y *Glomus* sp. Mientras que Herrera *et al.* (2019) en la variedad de café Típica, encontraron predominancia de los géneros *Acaulospora* y *Rhizophagus*: *A. scrobiculata*, *A. foveata*, *A. mellea*, *A. laevis*, *A. delicata*, *A. capsicula*, *A. spinosa*, *A. lacuosa*, *R. intraradices*, *R. fasciculatus* y *R. manihotis*. En un estudio en Ecuador al identificar las especies de HMA nativas en plantaciones de café de las variedades Caturra y Geisha encontraron así mismo que *Glomus* y *Acaulospora* fueron los géneros más ricos en especies (Guachanamá, 2020).

Posada *et al.* (2016), realizaron un estudio comparativo de los HMA de dos importantes zonas cafetaleras, una en el municipio de Apia-Risaralda, Colombia y otra en el estado de Veracruz, México; las especies más frecuentes en ambos países fueron *A. mellea*, *A. spinosa*, *Ambispora fennica*, *Diversispora aurantia*, *Dominikia aurea*, *Glomus brohultii*, *R. clarum* y *R. intraradices*. En el café robusta en Chiapas (*C. canephora* L.), se identificaron *A. foveata*, *A. mellea*, *A. rehmi*, *A. scrobiculata* y *A. spinosa*, como las especies más frecuentes (Bertolini *et al.*, 2020). Existen relaciones específicas entre las plantas y los HMA, pero frecuentemente la abundancia y la diversidad dependen de las condiciones edáficas, de las plantas hospedero, del nivel de esporulación de las especies de HMA (Chiquito *et al.*, 2018), de los efectos estacionales, del manejo agronómico en los ecosistemas y el agroecosistema (Trejo *et al.*, 2011).

No obstante, resalta el hecho de qué, para ambas variedades de café, el género *Acaulospora* fue el más frecuente, mientras que en los demás géneros se registraron entre una y tres especies; en la variedad de café Bourbon se encontraron tres especies de HMA desconocidos del género *Acaulospora* (*Acaulospora* sp. 1, *Acaulospora* sp. 3 y *Acaulospora* sp. 4), candidatos para ser identificados como especies nuevas (Cuadro

3). De igual manera Hernández *et al.* (2021) mencionan que el género con mayor número de especies asociadas al cultivo de café fue *Acaulospora* con 23 spp. Una característica particular de los suelos de los cafetales es que presentan un pH ácido y de acuerdo con Garzón (2016) el género *Acaulospora* se encuentra asociado con suelos ácidos, lo que explicaría su predominancia en el cultivo del café.

4.3 Riqueza de especies de HMA asociados a los consorcios Bor y Sar.

4.3.1 Conteo de esporas de los consorcios de HMA nativos

La cuantificación de esporas de cada maceta trampa indicó una mayor multiplicación de esporas, en las muestras del municipio de Montecristo de Guerrero (M), por ello se eligieron los consorcios procedentes de este municipio para este experimento. Los HMA que se multiplicaron provinieron de los muestreos de ES (época de seca).

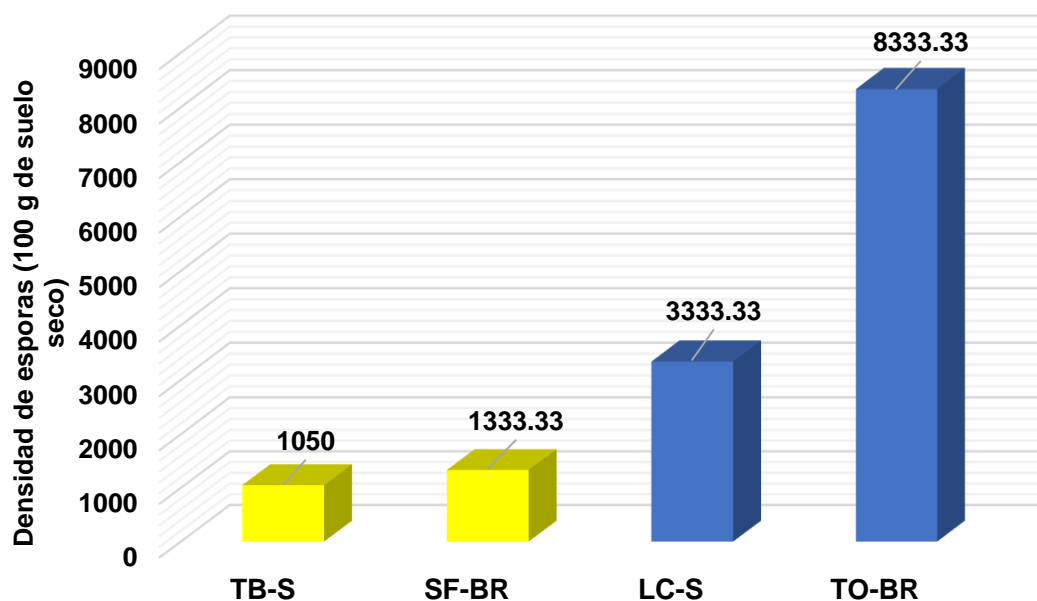


Figura 10. Densidad de esporas de HMA a partir de macetas provenientes de distintas variedades de café (Sarchimor= S; Bourbon= BR) en época de seca.

De la variedad Sarchimor se obtuvo el Consorcio Sar (LC-S), con una concentración de 33.3 esporas g^{-1} y de la variedad Bourbon se obtuvo el Consorcio Bor (TO-BR), con una concentración de 83.3 esporas g^{-1} , ambos de Montecristo de Guerrero, Chiapas (Figura 10). Con respecto a los trabajos de Alva (2019) y de Del Águila (2016) las cantidades de esporas encontradas en este estudio, están en el mismo intervalo de valores.

Alva (2019), multiplico HMA nativos del cultivo del café de la variedad Caturra, de cuatro sitios diferentes y obtuvo (19.5 esporas g^{-1} , 126 esporas g^{-1} , 13.6 esporas g^{-1} y 12.8 esporas g^{-1}), en su trabajo señaló que el tipo de cultivo trampa y la fuente de origen de los HMA (tipo de suelo, altitud y especie de HMA) están relacionados con la esporulación de los HMA, ya que el inóculo proveniente de mayor altitud produjo mayor esporulación en las plantas trampa. De la misma manera Del Aguila (2016), multiplicó HMA nativos de café de diferentes sitios, edad de plantaciones, manejo agronómico y sanidad de las plantas; al contabilizar los HMA nativos en las plantas trampas, las cantidades fluctuaron (58.7 esporas g^{-1} a 154.7 esporas g^{-1}), concluyendo que la esporulación de los HMA está relacionada entre las plantas hospederas y la fuente del origen del inóculo.

En esta investigación la maceta de multiplicación de las HMA, con mayor esporulación fue del sitio de muestreo TO-BR, proveniente de suelo de cafetales con bajo contenido de fosforo (P), medio de nitrógeno (N), bajo en potasio (K), medio en materia orgánica (M.O.) y un pH ácido, mientras que la maceta con menor esporulación fue TB-S, provino de suelos con, alto en P, medio en N, bajo en K, medio en M.O. y pH ácido (Figura 10). La baja disponibilidad de fósforo en los suelos puede generar una simbiosis más efectiva entre el cultivo del café y los HMA, la falta de fósforo provoca que las plantas liberen estrigolactonas (hormona vegetal tipo carotenoide), que estimulan la ramificación y atracción de hifas micorrízicas durante el inicio de la simbiosis (Swamy *et al.*, 2016). Por otro lado, Barrera (2009) y Sánchez (2015), mencionaron que la esporulación de los HMA depende de la relación entre las especies de los HMA y las plantas hospederas, debido a la liberación de exudados que producen las raíces (flavonoides, estrigolactonas y auxinas) que se generan por los requerimientos de P en la planta. Por lo cual, en suelos pobres en nutrientes, las plantas son dependientes obligadas de los HMA (Acosta, 2019).

4.3.2 Identificación de especies de los HMA en los Consorcios nativos

Del total de esporas aisladas en los consorcios se lograron identificar diez especies de HMA diferentes en el consorcio Sar, siete especies en el consorcio Bor, distribuidas en cuatro familias para ambos consorcios y el género *Acaulospora* predominó en el consorcio Sar (Cuadro 5). El número de especies propagadas en los consorcios de

HMA puede considerarse buena, ya que Hernández-Cuevas y García-Sánchez (2008) inocularon plantas de *Eysenhardtia polystachya* (Fabaceae) y *Amelanchier denticulata* (Rosaceae) y obtuvieron resultados favorables.

Cuadro 5. Diversidad de especies de HMA identificados en las macetas trampa a partir de macetas trampas.

Espece de HMA	Consortio Sar	Consortio Bor
Familia: Acaulosporaceae		
<i>Acaulospora denticulata</i> Sieverd. & S. Toro	+	+
<i>Acaulospora minuta</i> Oehl, Tchabi, Hountondji, Palenz., I.C. Sánchez & G.A. Silva	+	
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	+	+
Familia: Claroideoglomeraceae		
<i>Claroideoglopus claroideum</i> C. Walker & Schuessler	+	+
<i>Claroideoglopus etunicatum</i> C. Walker & Schuessler	+	+
Familia: Glomeraceae		
<i>Funneliformis geosporus</i> C. Walker & Schuessler	+	+
<i>Funneliformis mosseae</i> C. Walker & Schuessler	+	+
<i>Rhizophagus intraradices</i> C. Walker & Schuessler	+	+
Familia: Gigasporaceae		
<i>Scutellospora dipurpurescens</i> J.B. Morton & Koske	+	
<i>Gigaspora candida</i> Bhattacharjee, Mukerji, J.P. Tewari & Skoropad	+	

Los resultados de esta investigación son similares a los obtenidos en el trabajo de Alva (2019), quien multiplicó HMA nativos del café de la variedad Caturra, utilizando como macetas trampa una mezcla de gramíneas (*Oryza sativa*, *Brachiaria brizantha* y *Zea mays*); logró identificar 11 especies pertenecientes a seis géneros (*Glomus*, *Diversispora*, *Funneliformis*, *Acaulospora*, *Rhizophagus*, *Claroideoglopus*), siendo predominante *Glomus*. Cuatro de los géneros se comparten con los reportados por Alva (2019), pero al contrario de lo encontrado por él, en este estudio no predominó *Glomus* sino *Acaulospora* y se propagaron especies de dos géneros de la familia *Gigasporaceae*. La idea de utilizar a los HMA nativos en consorcios y no como especies individuales es que la diversidad de especies de HMA presentan mayor beneficio en la planta hospedante en el desarrollo vegetativo, además los consorcios

de micorrizas nativos son más efectivos que los HMA de una sola especie o especies introducidas de otros sitios de producción (Quiñones *et al.*, 2019).

Ya que los consorcios son una mezcla de diferentes especies de HMA, por lo que el uso de consorcios incrementa las posibilidades de que más de uno de los HMA colonice a la planta y genere los efectos benéficos de la simbiosis entre la planta hospedero y las especies de los HMA (De la Rosa *et al.*, 2012), además los HMA nativos presentan mayor eficiencia para la captación de nutrimentos, agua y la estimulación fisiológica de las plantas ya que cuenta con las adaptaciones edafoclimáticas donde realizaran la simbiosis con las plantas (Garzón, 2016).

4.4 Evaluación de los efectos de los HMA en el desarrollo vegetativo de las plantas de café a nivel de vivero.

4.4.1 Altura, diámetro y número de hojas de las plantas de café

A los 150 DDI, se midió la altura, el diámetro y se contó el número de las hojas de las plantas de café; el análisis estadístico mostró diferencias altamente significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), entre las variedades de café y entre algunos tratamientos. Para estas variables las plantas de café de la variedad Bourbon alcanzaron los mejores resultados y los tratamientos con mayor crecimiento fueron el T2 (Br.Cbor.Sr.) y T4 (Br.Csar.Sr.), con 37.5 cm y 37 cm respectivamente, sin diferencias significativas entre sí. (Figura 11), los incrementos de altura al comparar los consorcios de HMA con respecto al testigo sin roya y sin HMA T8 (Br.Shma.Sr.) de la misma variedad fueron: 258% T2 (Br.Cbor.Sr.) y 255% T4 (Br.Csar.Sr.), este comportamiento fue muy similar en los tratamientos con roya de esta misma variedad respecto al testigo T7 (Br.Shma.Cr.), donde se encontraron los siguientes incrementos: 206% T1 (Br.Cbor.Cr.) y 227% T3 (Br.Csar.Cr.) (Cuadro 6).

En esta investigación la utilización de los HMA como promotor de crecimiento en las plantas de café a nivel vivero, resultó muy efectiva ya que en todos los tratamientos con HMA las plantas aumentaron su altura más del 100% comparadas con el testigo T8 (Br.Shma.Sr.) y T7 (Br.Shma.Cr.). De igual manera Hernández *et al.* (2018) reportaron el efecto de los consorcios de HMA en plantas de café que incrementaron 198% la altura comparada con el testigo. Del Aguilar *et al.* (2018) demostraron que los

consorcios de HMA produjeron plantas 10.65% más altas que el control (sin HMA) y Saboya (2018), reporto un aumento del 273%.

Cuadro 6. Desarrollo de las plantas de café por efecto de la inoculación de HMA (diferentes tratamientos) bajo condiciones de vivero.

Tratamientos	Altura de la planta (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Número de hojas
T1	30.0 ef	3.1 bcdef	16.1 abcd
T2	37.5 f	4.0 a	18.6 ab
T3	33.0 e	3.4 abcd	15.3 bcd
T4	37.0 f	3.9 abc	21.0 a
T5	31.2 e	3.4 abcde	16.8 abcd
T6	33.0 ef	4.0 ab	19.1 ab
T7	14.5 b	1.8 gh	8.66 e
T8 (sin HMA)	14.5 b	2.1 fgh	11.8 cde
T9	19.2 bcd	2.8 defgh	17.0 abc
T10	17.0 abcd	2.6 efgh	18.5 ab
T11	21.5 cd	2.9 cdefg	18 ab
T12	24.0 d	3.2 bcdef	17.5 ab
T13	19.0 c	3.3 abcde	18.8 ab
T14	19.6 bcd	2.6 efgh	16.2 abcd
T15	9.0 a	1.7 h	11.6 de
T16 (sin HMA)	10.1 a	2.0 gh	14.8 bcde

Letras distintas en cada variable de respuesta indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba Tukey ($p \leq 0.05$).

En los tratamientos de la variedad Sarchimor, se puede observar que fue la variedad que creció menos; esto no es extraño ya que se considera como de crecimiento vegetativo lento, como lo confirma un estudio que realizó Zapata (2018), quien comparo el crecimiento de las variedades Bourbon y Sarchimor a los 3 años de haberlos establecidos en campo, obteniendo Bourbon 323 cm de AP (Altura de la planta) y Sarchimor 195 cm AP. Al comparar los tratamientos con roya y sin roya de esta variedad no presentaron diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$), sin embargo, al

comparar los tratamientos T16 (Sar.Shma.Sr.) con respecto al T14(Sar.Fmos.Sr.), se encontraron aumentos del 193% en el crecimiento utilizando la especie *Funneliformis mosseae*.

Se han reportado que utilizar especies selectivas de HMA, producen buenos resultados como lo demostró, Moisés *et al.* (2015); inocularon plantas de café con *Rhizophagus intraradices*, las plantas micorrizadas crecieron 23 cm, con un incremento del 115% comparado con las plantas sin HMA, con esta misma especie Adriano *et al.* (2011), inocularon plantas de café de la variedad Bourbon aumentando 32.8% que los testigos a los 112 DDI.

Por otro lado, en el Cuadro 6, se puede observar que en las variables diámetro del tallo y número de hojas tuvieron un comportamiento similar, ya que el T2 (Br.Cbor.Sr.) y T6 (Br.Fmos.Sr.), fueron los que obtuvieron los mejores crecimientos de diámetro y número de hojas. El incremento del diámetro en los tratamientos con HMA se debe a que las plantas asociadas con ellos se benefician por el incremento en la toma de nutrientes como nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre, cobre, molibdeno, hierro y manganeso (Sánchez, 2015). Estos macro y microelementos son los esenciales para el buen desarrollo vegetativo de las plantas de café (CEDICAFE, 2019).

Las plantas de café que fueron inoculadas con HMA mejoraron significativamente su crecimiento en el diámetro del tallo, con incrementos de 168% más que las plantas no micorrizadas T15 (Sar.Shma.Cr.) y T16 (Sar.Shma.Sr.). Los resultados de esta investigación coinciden con los obtenidos para otras plantas de importancia económica, por ejemplo, por Quiñones *et al.* (2020), que al inocular plantas de guayaba (*Psidium guajava* L.), con consorcios de HMA, incrementaron 145% más que las no micorrizadas, de igual forma Alarcón *et al.* (2003), inocularon plantas de limón (*Citrus volkameriana* Tan & Pasq.) con HMA encontraron incrementos del 33 % con relación al testigo sin inoculación de HMA.

Con respecto al número de hojas en el Cuadro 6, la inoculación con los HMA incremento 244% el número de hojas en las plantas de café inoculadas con HMA con respecto a los tratamientos sin HMA T15 (Sar.Shma.Cr.) y T16 (Sar.Shma.Sr.),

resultados muy satisfactorios; Moisés *et al.* (2015), inocularon plantas de café con HMA, encontrando incrementos del 134%, mientras que Trejo *et al.* (2018) reportaron un incremento de 300%. Por otro lado, Aguirre *et al.* (2011), inocularon plantas de café de la variedad oro azteca con *R. intraradices* y al comparar el número de hojas en plantas con y sin HMA, no encontraron diferencias significativas a los 210 DDI, sin embargo, otras investigaciones en otros cultivos afirman que con la utilización de los HMA aumentaron el crecimiento del número de hojas (Gutiérrez *et al.*, 2009; De la Rosa *et al.*, 2012; Ley *et al.*, 2015; Reyes *et al.*, 2016).

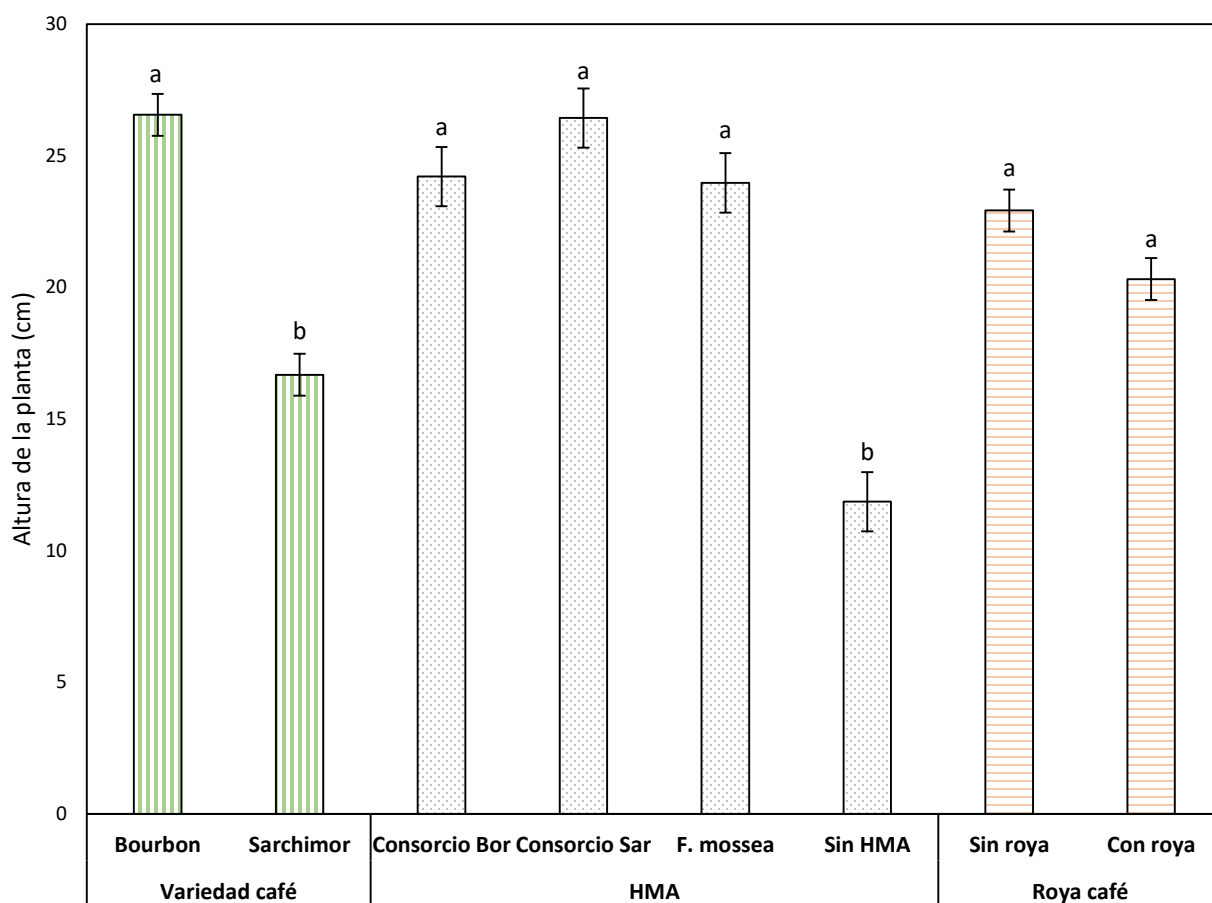


Figura 11. Efecto de los HMA en el crecimiento de las plantas de café por factor de estudio: (Variedad de café, HMA y Roya del café. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba Tukey ($p \leq 0.05$). La barra indica \pm el error estándar.

Como se puede observar en la Figura 11, al comparar el crecimiento de las plantas entre los diferentes HMA inoculados, se encuentran diferencias entre sí, al compararlo con las plantas sin HMA. Esto se debe a que los HMA incrementan la traslocación y

la solubilización de elementos esenciales, la absorción de nutrientes minerales y de agua y el aumento de la tolerancia ante condiciones abióticas (Ruscitty, 2017; Herrera *et al.*, 2019).

Además, los HMA, activan y aumentan las auxinas que ayudan a promover, la elongación del tallo por incrementar los niveles de endógenos de giberelinas 3 β -hidroxiladas (Adriano *et al.*, 2011), e incrementan la actividad de enzimas relacionadas con la lignificación (Reyes *et al.*, 2016).

En las plantas que fueron infestadas con roya (20.31 cm) y sin roya (22.91 cm) se pueden ver en la Figura 11, que no son diferentes Tukey ($p \leq 0.05$) esto se debe a que una de las funciones de los HMA, es ayudar a activar en las plantas la RIM (Resistencia Inducida por Micorrización) a través de la producción de fitohormonas, de enzimas, de vitaminas y de antibióticos; para enfrentar plagas y enfermedades (Nazareno *et al.*, 2020).



Figura 12. Crecimiento de plantas de café de la variedad Bourbon y Sarchimor sin roya a los 150 días después de la inoculación bajo condiciones de vivero. La escala en la foto de en medio va de 0 a 60 cm.

Actualmente se está enfrentando una crisis mundial en los precios de los fertilizantes convencionales; el fertilizante urea (46-00-00) es el más utilizado en la producción del café ya que favorece el crecimiento de las plantas, sin embargo, su costo se ha incrementado más del 69%, esto representa una situación crítica que impactará en la producción agrícola y provocará el aumento de precios en los alimentos a partir del año 2022 (Vásconez, 2021). Para el cultivo del café a nivel vivero se recomiendan de 6 a 8 fertilizaciones foliares, la dosis a usar en la fertilización foliar es de 10 a 20 cm³ por 4.5 L, realizar de 1 a 2 aplicaciones por mes y para los fertilizantes convencionales sólidos aplicar 25 g distribuidos en 6 aplicaciones para obtener plantas de café de 25 cm a nivel vivero (Napoleón *et al.*, 2005). Como se puede observar en la Figura 12, el mejor tratamiento para la variedad Bourbon creció 37.5 cm, mientras que para la variedad Sarchimor fueron 21.5 cm, en un periodo de 5 meses, tiempo ideal a nivel vivero; al comparar las plantas inoculadas con HMA y las no inoculadas (testigo) se puede ver el efecto notable de los HMA en la altura de la planta, en ausencia total de fertilizante convencional y de abonos orgánicos sólidos o líquidos. El uso de los HMA no es común entre los viveristas, a través de esta investigación se puede demostrar que su uso resulta benéfico para su economía además de preparar a la planta para salir a campo con un sistema biológico que favorecerá su adaptación a su nuevo hábitat (Del Aguilar, 2016).

4.4.2 Severidad de la roya del café *Hemileia vastatrix* en plantas de café inoculadas con HMA

La roya del café *Hemileia vastatrix* es la principal enfermedad que ataca al cultivo del café (Colonia, 2012), provoca la caída de las hojas y reduce más del 50% de la producción (Pérez, 2016). Para evaluar el efecto bioprotector de los HMA se utilizó la escala de severidad de la roya emitida por SENASICA (2019).

En la Figura 13, se observa que en la comparación los tratamientos inoculados y no inoculados de la variedad Bourbon “altamente susceptible a la roya”, no presentaron diferencias significativas Tukey ($p \leq 0.05$), es decir la micorriza no controló la presencia de la roya, pero si disminuyó el 25% de la severidad en base a la escala del porcentaje del área foliar con presencia de roya equivalente a 0.77 del nivel de la severidad en del SENASICA (2018).

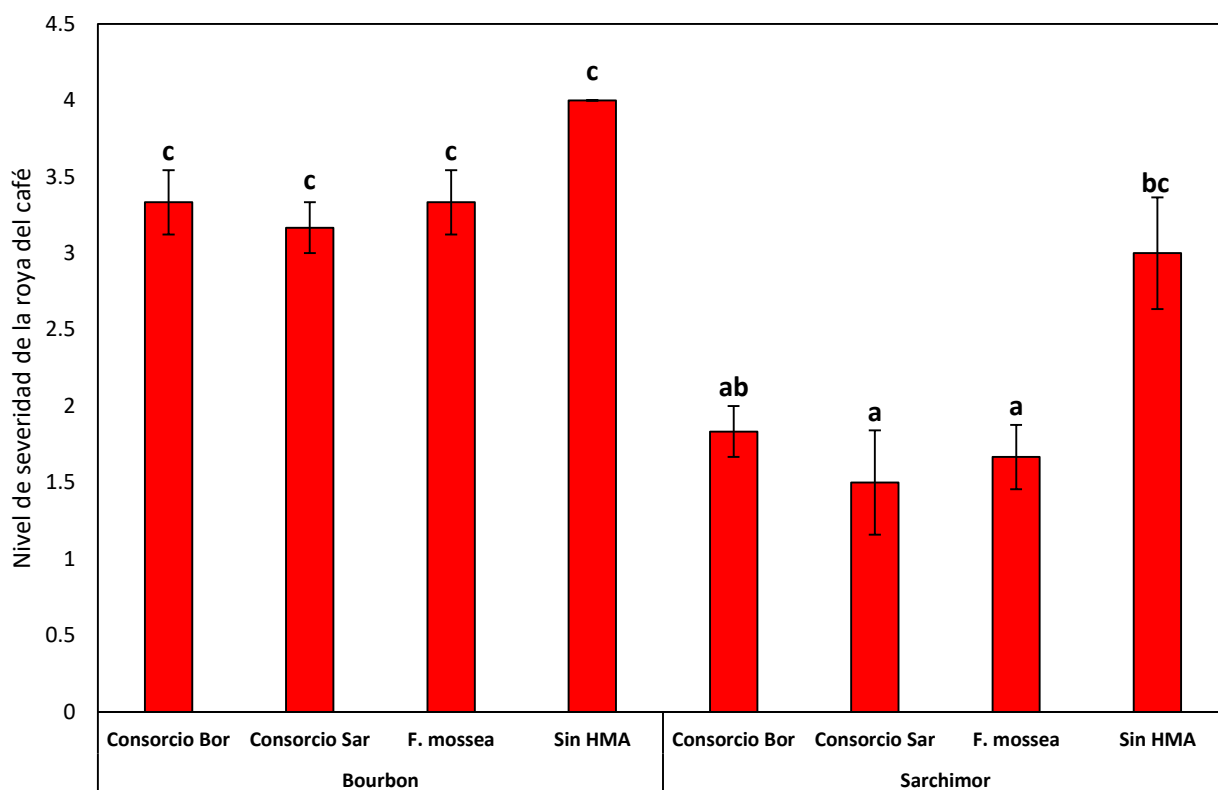


Figura 13. Nivel de severidad de la roya *Hemileia vastatrix* en las plantas de café cultivadas en vivero durante 150 DDI. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba Tukey ($p \leq 0.05$). La barra indica \pm el error estándar.

Estos datos obtenidos fueron muy similares a los de Romero (2019), quien inoculó plantas de café de las variedades Típica, Caturra y Pache, “variedades altamente susceptibles a roya”, aplicando al momento del trasplante 1, 500 esporas de HMA y después de 180 DDI esporas de *Hemileia vastatrix* que produjeron una infección que siguió su curso natural; a los 2 meses de haber inducido enfermedad encontraron que no hubo diferencias significativas entre plantas micorrizadas y no micorrizadas (Tukey $p \leq 0.05$).

Por el contrario Vallejos *et al.* (2021), reportaron mejores resultados, ya que de la misma manera inoculó con 1,500 esporas de HMA al momento del trasplante a plantas de café de la variedad Caturra, y después las plantas fueron infectadas con esporas de roya a una dosis de 2×10^5 conidias/mL, aunque en la investigación no menciona a los cuantos días después del trasplante fueron infectadas, los resultados mostraron diferencias altamente significativas Tukey ($p < 0,05$), en la severidad de la roya cuando fueron inoculados con los HMA, mientras que en la variedad garnica “susceptible a la

roya”, los resultados indicaron que en el testigo se aumentó un 34.72% de severidad de la enfermedad (Vallejos *et al.*, 2021).

En la variedad Sarchimor “resistente a la roya”, en esta investigación el nivel de la severidad de la roya disminuyó en las plantas inoculadas con HMA (diferencias altamente significativas según Tukey $p \leq 0.05$), cómo se puede observar en la Figura 13, disminuyendo la severidad 22% (1.2) con el Consorcio Bor, 24% (1.5) con el Consorcio Sar y 23 % (1.4) con *Funneliformis mosseae*, con respecto al testigo.

Los resultados obtenidos en la resistencia a la enfermedad pueden estar relacionados con la abundancia y la diversidad de especies que integran los consorcios de HMA, tal como lo menciona (Prieto *et al.*, 2011), que al utilizar diferentes consorcios de distintos géneros favoreció el incremento de micorrización en las plantas, ya que al limitar el número de esporas resulta difícil favorecer una buena simbiosis entre el hospedante y el HMA; por esta razón podría deducirse que el inóculo empleado en la investigación de Vallejos *et al.* (2021), la cantidad de esporas detuvieron la infección y por lo tanto mayor eficacia. Sin embargo, se necesita investigar el número aproximado de esporas y las especies que generen un efecto bioprotector en las variedades de café altamente susceptibles a la roya y resistentes a ella (Word Coffee Research, 2018).

Ya que Herrera (2019), reporto que la sanidad de una planta puede indicar una mayor esporulación de los HMA en la planta hospedero, ya que contabilizó esporas de HMA nativos en plantaciones de café de la variedad típica con roya y sin roya y encontró que en las plantas sanas contenían 661.68 esporas/100 g, mientras que en las plantas enfermas 475.42 esporas/100 g.

En la Figura 14, después de infectar a las plantas con roya, a los 60 días se pueden ver el daño provocado en las hojas (Rivillas *et al.*, 2011). Sin embargo, en las plantas micorrizas la severidad fue más controlada, ya que el uso de los HMA permitió el establecimiento de otros microorganismos antagónicos a fitopatógenos, bacterias promotoras del crecimiento vegetal, lo cual generan una barrera de bioprotección para la planta, la gestión de las comunidades microbianas asociadas a las plantas ayuda a enfrentar factores bióticos y abióticos perjudicial (Tarquini, 2019).

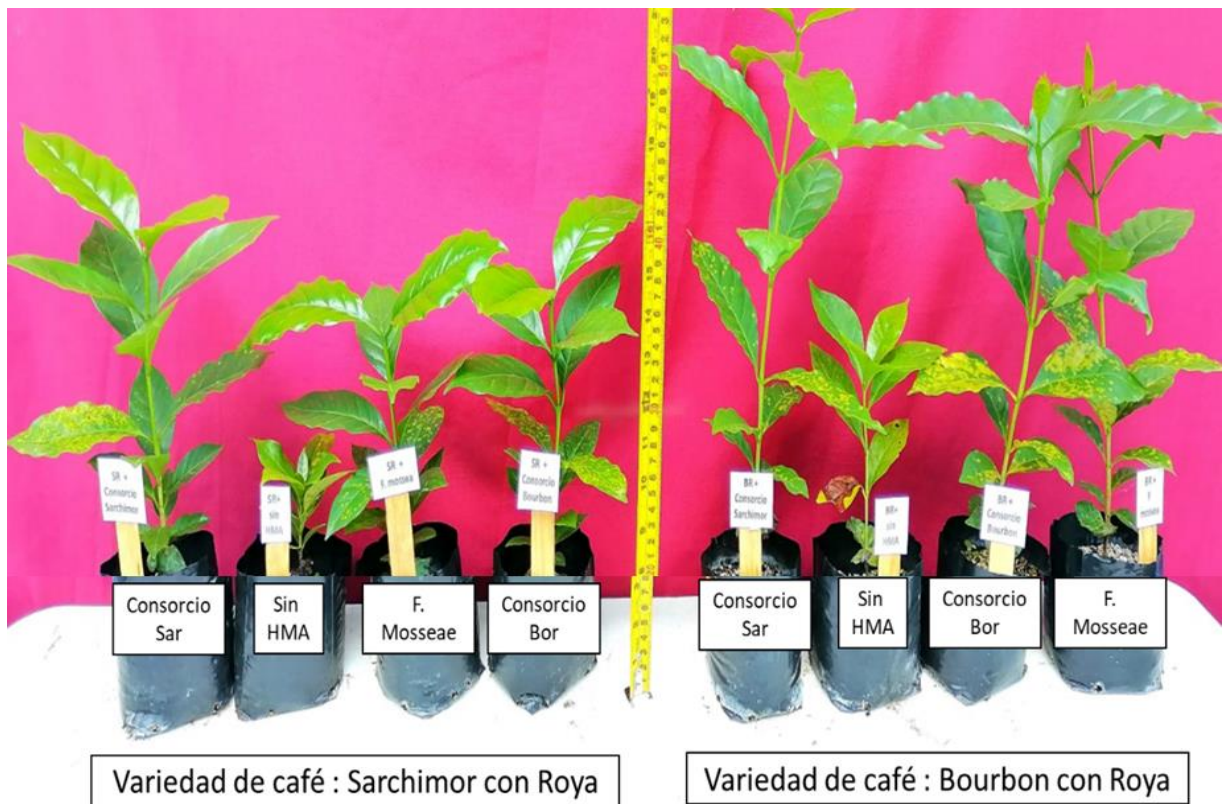


Figura 14. Severidad de la roya en las plantas de café micorrizadas a los 150 DDI en condiciones de vivero. La escala en la foto de en medio va de 0 a 60 cm.

La red de hifas de los HMA actúa como una compensación estructural funcional en raíces de plantas enfermas, reduciendo de este modo la severidad de la enfermedad, ya que las raíces micorrizadas están invadidas de hifas dentro y fuera de las plantas que compiten por espacio y nutrientes con los microorganismos fitopatógenos (Reyes *et al.*, 2016).

Otros autores (Riveros, 2010; Mujica y Molina, 2017), han mencionado que el efecto de los HMA como bioprotectores ante las enfermedades, es generado porque mejoran el estado nutricional de la planta permitiendo una mayor tolerancia y respuesta ante un ataque o estrés biológico, climático o mecánico. Los resultados obtenidos en este estudio indican que las plantas de café micorrizadas que estuvieron 5 meses en vivero produjeron un buen número de hojas, esto se debe a que los HMA estimulan la actividad metabólica radical y aumentan la producción de la fitohormona citocinina, la cual activa la división celular y en consecuencia el crecimiento de diferentes órganos de la planta como las hojas (Romero, 2019).

4.4.3 Incidencia de la roya *Hemileia vastatrix* en las plantas de café inoculadas con HMA a nivel de vivero.

En el Cuadro 7, se presenta la comparación de medias con la prueba de (Tukey $p \leq 0.05$), con diferencias significativas entre los tratamientos, para la variable incidencia de roya en las plantas de café. Los tratamientos con menor incidencia fueron; T11 (Sar.Csar.Cr.) 29.5% y T13 (Sar.Fmos.Cr) 37.4% y los tratamientos con mayor incidencia fueron; T3 (Br.Csar.Cr) 52.7%, T7 (Br.Shma.Cr) 64.2%, todos los tratamientos presenciaron un grado de incidencia distinto, y lograron disminuir la sintomatología de la enfermedad en más de un 34%, comparando el mejor tratamiento con el tratamiento más infectado, por lo tanto, presentaron efectos positivos en la bioprotección en las plantas de café de ambas variedades.

Cuadro 7. Efecto bioprotector de los HMA ante *Hemileia vastatrix* a los 150 DDI en plantas de café a los 150 DDI bajo condiciones de vivero.

Tratamiento	Hojas con roya	Pústulas por hoja	Incidencia de la roya (%)
T2,T4,T6,T8	0b	0f	0d
T1	8a	109.7e	50.5bc
T3	8.1a	90.8de	52.7bc
T5	8a	73.6cde	49.5bc
T7 (sin HMA)	5.5a	55.3bcd	64.2c
T10,T12,T14,T16	0b	0f	0d
T9	6.8a	48.1bcd	40ab
T11	5.3a	48.4bcd	29.5a
T13	7a	33.3abc	37.4ab
T15 (sin HMA)	5.6a	22.6ab	47.5abc

*Letras distintas indican diferencias significativas según Tukey ($P \leq 0.05$).

Los tratamientos T7 (Br.Shma.Cr) y T15 (Sar.Shma.Cr), fueron los tratamientos con menor número de pústulas debido a que en esos tratamientos no lograron crecer muchas hojas y muchas plantas ya se habían defoliado debido a la agresividad de la enfermedad.

Estos resultados son diferentes a los de Romero (2019), quien inoculó con tres consorcios nativos de HMA a plantas de café de las variedades Típica, Caturra y Pache; después de 180 DDI evaluó la incidencia de la roya sin encontrar diferencias significativas entre consorcios con el testigo (Tukey, $p \leq 0.059$), por lo que concluyó que la aplicación de los HMA no produjo efectos de bioprotección. Sin embargo, Saboya (2018) al inocular plantas de café de la variedad Caturra, después de que las plantas fueron infectadas con esporas de roya, indicó que los análisis estadísticos mostraron diferencias altamente significativas Tukey ($p \leq 0.05$) de los consorcios de HMA con respecto al testigo.

Las plantas de café podrían estar disminuyendo la sintomatología de la roya debido a la producción de metabolitos como respuesta al ataque del hongo, es decir por RSI, los metabolitos que podrían estar implicados en la RSA son 5-CQA, cafeína y ácido gálico y los que participan en la RSI son ácido ferúlico y la cafeína, el 5-CQA puede estar relacionado con la producción de cutinasa en la roya y con la reducción de la producción de melanina fúngica, la cutinasa es una enzima que el hongo usa para degradar la cutina de las hojas y poder adherirse a ellas permitiendo infectar a la hoja, por lo que al disminuir la cutinasa la roya no tendrá la capacidad de penetrar las hojas del café (Luján *et al.*, 2020).

Avelino y Rivas (2013), mencionan que *Hemileia vastatrix* tiene unas 50 especies, de las cuales sólo dos son capaces de afectar el café, *H. vastatrix* y *H. coffeicola*. La primera tiene las características de una especie con gran potencial evolutivo o alta capacidad de mutación, es decir, aumento de agresividad; desde la introducción de la roya anaranjada a México, numerosas razas nuevas han sido detectadas. A partir del año 2012 en México para poder enfrentar esta problemática introdujeron variedades con genes resistentes a roya; con menos años productivos, mala calidad en taza, no requieren de sombra, pero sí de muchos insumos convencionales; desafortunadamente en la actualidad estas plantas presentan roya y están afectando

las bases sociales, económicas y ecológicas de la cafecultura en el estado de Chiapas (Henderson, 2019).

Los investigadores nunca entendieron que *H. vastatrix*, es una especie con potencial de mutación alto y cuando la mutación se da sobre el gen de avirulencia, el reconocimiento ya no es posible; el resultado es una reacción compatible, en el que el hospedero se vuelve susceptible y el patógeno virulento, el gen de avirulencia se ha transformado en un gen de virulencia (Avelino y Rivas, 2013), por lo que las plantas resistentes a roya presentarían niveles preocupantes de incidencia de roya, como se está observando.

Y esto nos invita a prepararnos con nuevas investigaciones biotecnológicas donde se involucren variedades tradicionales de café y microorganismos benéficos (hongos, bacterias, virus, nematodos, bacteriófagos, protozoarios, algas), ya que no se puede olvidar el brote más perjudicial de roya en Centroamérica en el ciclo 2012-2013, cuando las pérdidas fueron superiores a US \$499 millones; varios países consideraron el hecho como una emergencia nacional (García y Hidalgo, 2019).



Figura 15. Infestación de roya en las hojas de las plantas de café de la variedad Sarchimor (resistente a la roya) inoculadas con HMA 150 DDI en condiciones de vivero. La escala está en cm.

Pozo *et al.* (2002) demostraron que las especies de HMA *R. intraradices* y *F. mosseae* (citado como *Glomus mosseae*) redujeron los síntomas de la enfermedad causada por

Phytophthora capsici mediante la RSI, lo cual hizo reaccionar rápidamente el aumento de los niveles de defensa de la planta dificultando el establecimiento del patógeno, para evitar daños severos en la planta. En las Figura 15 y 16, podemos observar el nivel de daño y la presencia de roya en las hojas de las plantas de café de las variedades Sarchimor y Bourbon, en los testigos se observan hojas cloróticas, mayor severidad, y un menor número de hojas; debido a una falta de nutrición eficiente sufren pérdidas más fuertes por el hongo (Henderson, 2018).

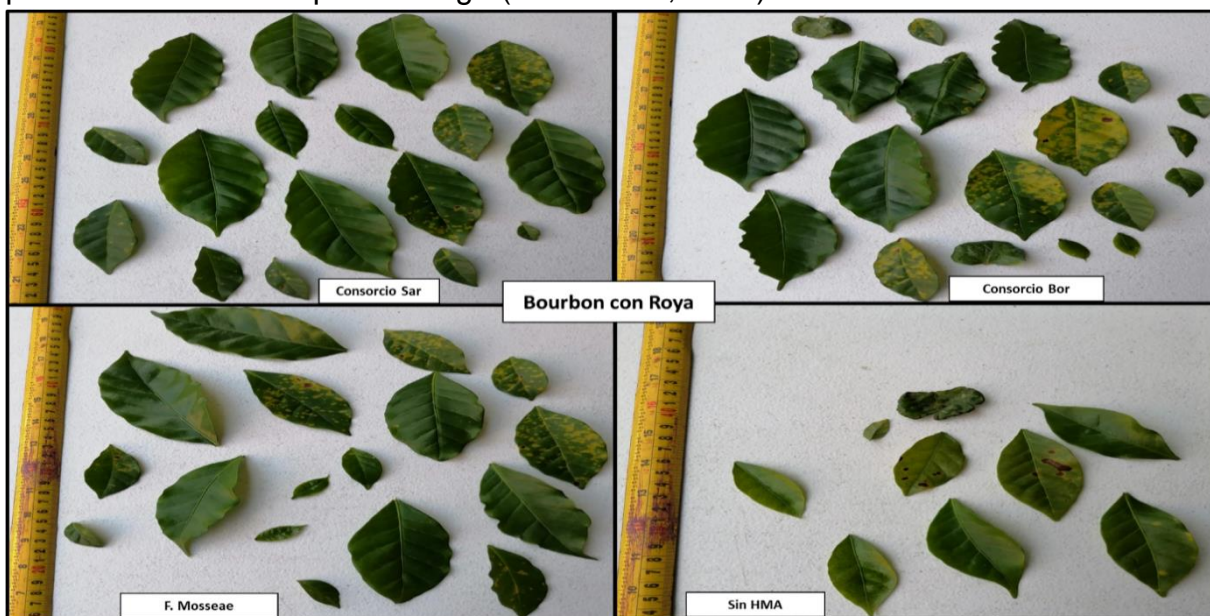


Figura 16. Infestación de roya en las hojas de las plantas de café de la variedad Bourbon (susceptible a la roya) inoculadas con HMA 150 DDI en condiciones de vivero. La escala está en cm.

4.4.4 Variables del sistema radicular (longitud, volumen y peso seco) de plantas de café inoculadas con HMA en condiciones de vivero.

La raíz de las plantas es el órgano que se encarga de fijarla en el suelo, a través del cual absorbe el agua y las sales minerales disueltas que son necesarias para la elaboración de sus propios alimentos (CENICAFE, 2016).

En el Cuadro 8, se puede observar diferencias significativas en la comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), para las variables; longitud, volumen y peso seco de la raíz de las plantas de café. El tratamiento con menor desarrollo radicular fue T15 (Sar.Shma.Cr.), es decir con la variedad Sarchimor sin HMA con roya y el tratamiento con los mejores resultados fue el T2 (Br.Cbor.Sr.).

Cuadro 8. Crecimiento del sistema radicular de plantas de café inoculadas con HMA en diferentes tratamientos bajo condiciones de vivero.

Tratamientos	Longitud de la raíz (cm)	Volumen radical (cm³)	Peso seco de la raíz (g)
T1	22 abc	4.8 abc	3.8 abc
T2	27.8 ab	7.5 a	6.7 c
T3	21 bc	6.5 ab	5 bc
T4	24.5 abc	5 abc	2.8 abc
T5	25.5 abc	7.3 a	4.5 bc
T6	28.3 abc	4.3 abc	4.3 abc
T7	21 bc	2 c	1.3 ab
T8 (sin HMA)	19.5 abc	2.8 bc	1.8 ab
T9	22 abc	5 abc	3 abc
T10	24 abc	4.7 abc	2.7 ab
T11	22 abc	5.7 abc	4 abc
T12	25.3 abc	3.5 abc	3.2 abc
T13	26 ab	5.3 abc	2.8 abc
T14	27 ab	3 bc	2.3 abc
T15	16.8 c	2 c	1.2 a
T16 (sin HMA)	20.8 bc	2 c	1.7 ab

*Letras distintas indican diferencias significativas según Tukey ($P \leq 0.05$).

Para demostrar el efecto de los HMA se compararon los resultados del T8 (Br.Shma.Sr.) con el T2 (Br.Cbor.Sr.), ambos de la misma variedad y sin roya, al comparar ambos tratamientos, se demostró que al utilizar T2 (Br.Cbor.Sr.) aumento 142% en la longitud de la raíz, 267% en el volumen radical y 372% en el peso seco. En la variedad Sarchimor si se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos disminuyendo su crecimiento 161% cuando no se inoculó a los HMA comparado con el mejor tratamiento de esta variedad. Y al comparar todos los tratamientos T3 (Br.Csar.Cr.) y T4 (Br.Csar.Sr.), ambos de la misma variedad, inoculados con el consorcio Sar, no presentaron diferencias significativas a pesar de que el tratamiento T3 (Br.Csar.Cr.) fue inoculado con roya.

Estos resultados fueron muy similares a los obtenidos por Moisés *et al.* (2015), inocularon plantas de café con diferentes especies de HMA, y encontraron diferencias significativas en el crecimiento de raíz entre los tratamientos inoculados y el control ($p \leq 0.05$), aumentado 136% cuando se utilizó los HMA. Perea *et al.* (2018) inocularon plantas de café de la variedad Garnica con un consorcio de HMA conformado por ocho especies distintas, al medir longitud de la raíz, observaron un aumento de 253% y 466% en el peso seco de la raíz cuando utilizaron el consorcio de HMA, con respecto al testigo. De la misma forma Hernández *et al.* (2018) demostraron la efectividad de los consorcios al evaluar el volumen radical, encontraron aumentos de 910% y 1063% en el peso seco de la raíz a los 335 DDI, con respecto al testigo.

Por su parte Trejo *et al.* (2018) obtuvieron mejores resultados, en el peso seco de la raíz reportaron aumentos de 1,458%. Del Aguilar (2016) obtuvo un aumento del 307%, Romero (2019), halló un aumento del 441%. Por su parte Adriano *et al.* (2011), evaluaron el efecto de la especie *R. intraradices* en plantas de café variedad Bourbon a los 112 DDI; cuando evaluaron la longitud de la raíz, hallaron incrementos del 114% y 141% en el peso seco de la raíz con respecto a las plantas testigo.

Las inoculaciones con los HMA, no siempre tienen el mismo resultado, aun cuando son de la misma variedad de café. Aguirre *et al.* (2011), inocularon plantas de café de la variedad oro azteca con *R. intraradices* (citado como *Glomus intraradices*) y compararon el peso seco de la raíz con plantas sin HMA y no encontraron diferencias significativas a los 210 DDI. De la misma manera, aunque en otro cultivo Tapia *et al.* (2010), no encontró diferencias en el volumen radical en plantas de lechuga (*Lactuca sativa*) a los 66 DDI. Pero han sido muchos los resultados positivos en otros cultivos que el uso de HMA es una alternativa para obtener plantas más sanas y vigorosas en menor tiempo y esto se ha demostrado en diversos cultivos (Quiñones *et al.*, 2012). Estos resultados indican que los HMA influyen positivamente en el desarrollo vegetativo de plantas de café, y para obtener mejores resultados, lo más recomendable es utilizar consorcios de HMA, que estén integrados con mayor diversidad de especies de HMA, ya que los resultados que se han reportado en investigaciones en el cultivo de café inoculados con consorcios de HMA, han demostrado mayor eficiencia en las plantas de café (Trejo *et al.*, 2011).



Figura 17. Longitud de la raíz en las variedades de café Bourbon y Sarchimor sin roya inoculadas con HMA en condiciones de vivero.



Figura 18. Longitud de la raíz en las variedades de café Bourbon y Sarchimor con roya inoculadas con HMA en condiciones de vivero.

Como se puede observar en las Figuras 17 y 18 se nota el crecimiento de las raíces cuando se utilizaron los HMA y la especie *Funneliformis mosseae*. En la actualidad, se busca obtener cultivos con altos rendimientos y calidad, en tiempos cortos y el crecimiento de las raíces es fundamental para todo el desarrollo vegetativo de la

planta; esto ha llevado al empleo de prácticas agronómicas convencionales con la dependencia de productos agroquímicos, sin embargo, estas prácticas pueden causar un impacto negativo sobre el medio y con ello la degradación de los recursos naturales, la erosión genética y la contaminación ambiental (Terry *et al.*, 2013).

4.4.5 Área foliar total

Se ha comprobado que el área foliar, es una variable relacionada directamente con los procesos de crecimiento vegetativo, tasa de desarrollo, eficiencia fotosintética, evapotranspiración, uso eficiente de nutrientes y agua (Montoya *et al.*, 2017). Por lo que en esta investigación se consideró medir esta variable.

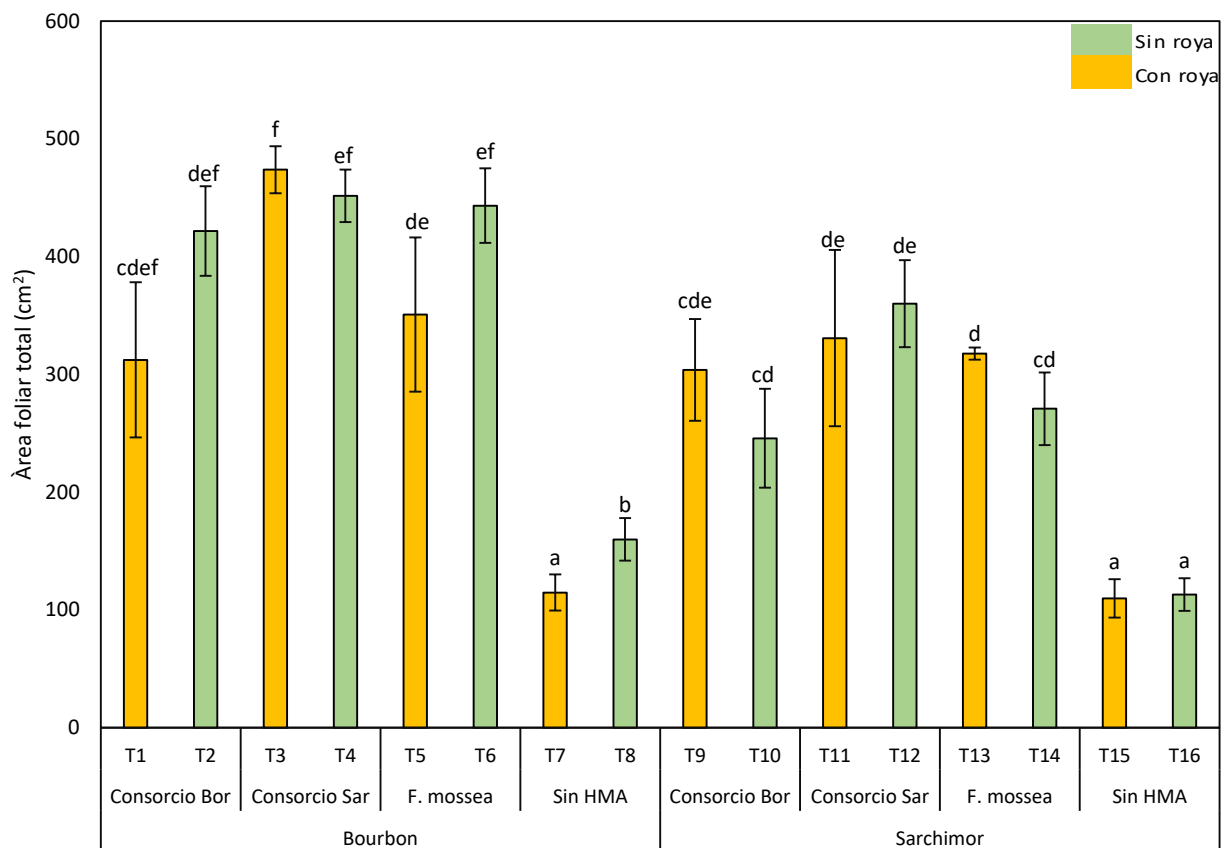


Figura 19. Área foliar total de los diferentes tratamientos. Análisis ANOVA no paramétrico Prueba de Kruskal-Wallis Valor-P = 7.12965E-7. La barra indica \pm el error estándar.

En la Figura 19, se observa la comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), con diferencias altamente significativas para la variable área foliar total en las plantas de café, en ella se puede apreciar que los tratamientos de la variedad Bourbon fueron los que obtuvieron los mayores resultados con los tratamientos; T3

(Br.Csar.Cr.), T4 (Br.Csar.Sr.) y T2 (Br.Cbor.Sr.), con 473.84, 451.54 y 421.70 cm² respectivamente, sin diferencias significativas entre sí, con base a los resultados del testigo (144.66 cm²) de esta misma variedad.

Estos resultados en la variedad Bourbon son muy similares a los obtenidos por Trejo *et al.* (2018) que al comparar con plantas de café sin HMA y con plantas inoculadas con consorcios de HMA nativos encontraron incrementos del 383%. Romero (2019) encontró un aumento del 367% (Tukey $p \leq 0.05$). Por su parte Saboya (2018), encontró un aumento del 462%. En otras investigaciones se han reportado incrementos en el área foliar al inocular HMA; del 676% (Hernández *et al.*, 2018); del 766% en la variedad Garnica a los 240DDI con 8 especies distintas de HMA (Perea *et al.*, 2018) y en la variedad Caturra del 239% a los 450 DDI (Del Aguilar, 2016).

También se puede observar en la Figura 19, el área foliar de la variedad Sarchimor donde los mejores resultados fueron: T12 (Sar.Csar.Sr.), T11(Sar.Csar.Cr.) y T13 (Sar.Fmos.Cr.) con 360.05 cm², 330.72 cm² y 317.61 cm² respectivamente, sin diferencias significativas entre sí, el tratamiento testigo T15 (Sar.Shma.Cr.) obtuvo 109.77cm², con diferencias altamente significativas (Tukey $p \leq 0.05$), es decir las plantas micorrizadas aumentaron el crecimiento foliar más del 328%.

Estos resultados son muy superiores con respecto a los obtenidos por Fernández *et al.* (2005), que al inocular con la especie *Acaulospora scrobiculata* a plantas de café, encontraron un incremento solo de 107% de área foliar, y por Moisés *et al.* (2015), que halló aumentos del 152% comparadas con las plantas de café testigo sin HMA.

Los resultados de este trabajo, son comparables con los obtenidos en otras investigaciones, ya que la micorrización genera incrementos del área foliar, que inciden en el aumento de las tasas fotosintéticas, potencial osmótico, conductancia estomática, reproducción y la transpiración, lo que conlleva a la obtención de plantas más vigorosas (Del Aguilar, 2016). Como se puede observar en las Figuras 20 y 21, las hojas sin HMA, presentan menor número de hojas, pequeñas, cloróticas, necróticas, sintomatología de deficiencias de N, P, K y microelementos.

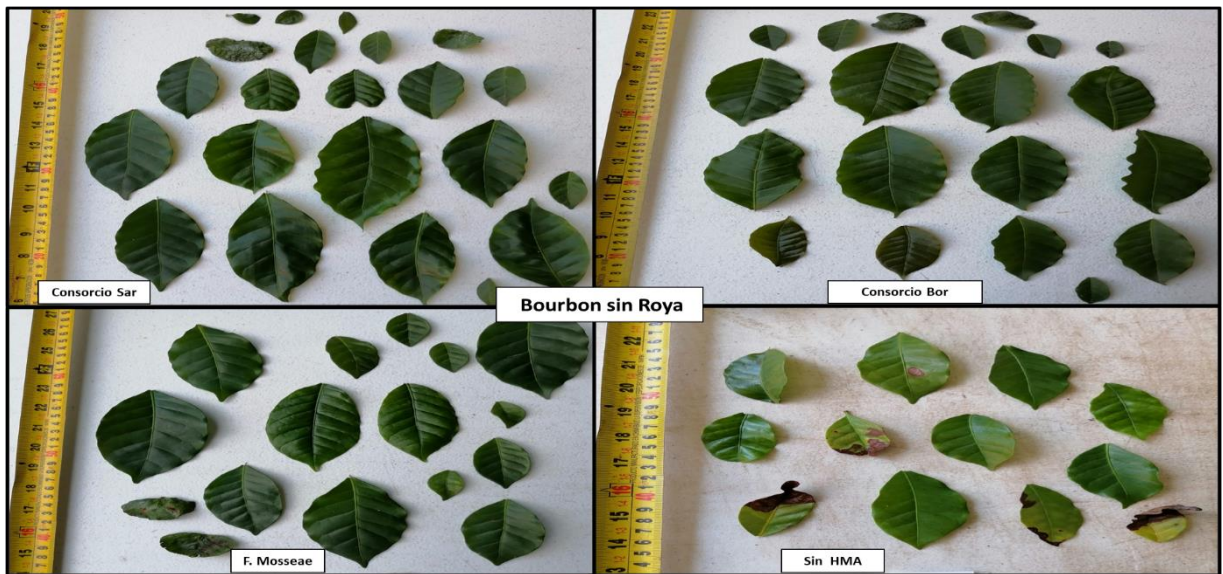


Figura 20. Crecimiento vegetativo de las hojas de las plantas de café de la variedad Bourbon sin roya a los 150 DDI en condiciones de vivero. La escala está en cm.



Figura 21. Crecimiento vegetativo de las hojas de las plantas de café de la variedad Sarchimor sin roya a los 150 DDI en condiciones de vivero. La escala está en cm.

La simbiosis que se genera con las plantas de café, representa un alto costo para la planta, ya que entre el 4% al 20% del carbono fijado a través de la fotosíntesis es consumido por el hongo y esto ayuda a mejorar la producción de las hifas del hongo, para la planta podría ser más desgastante producir más raíces que establecer una simbiosis que le aporte beneficios nutricionales mejorando el desarrollo fisiológico de la planta (Saboya, 2018).

4.4.6 Peso seco de la parte aérea de plantas inoculadas con HMA en condiciones de vivero

La materia seca es una de las variables de crecimiento y desarrollo más medidas en plantas de café para analizar el efecto de la micorriza como biofertilizante (Hernández, *et al.*, 2020).

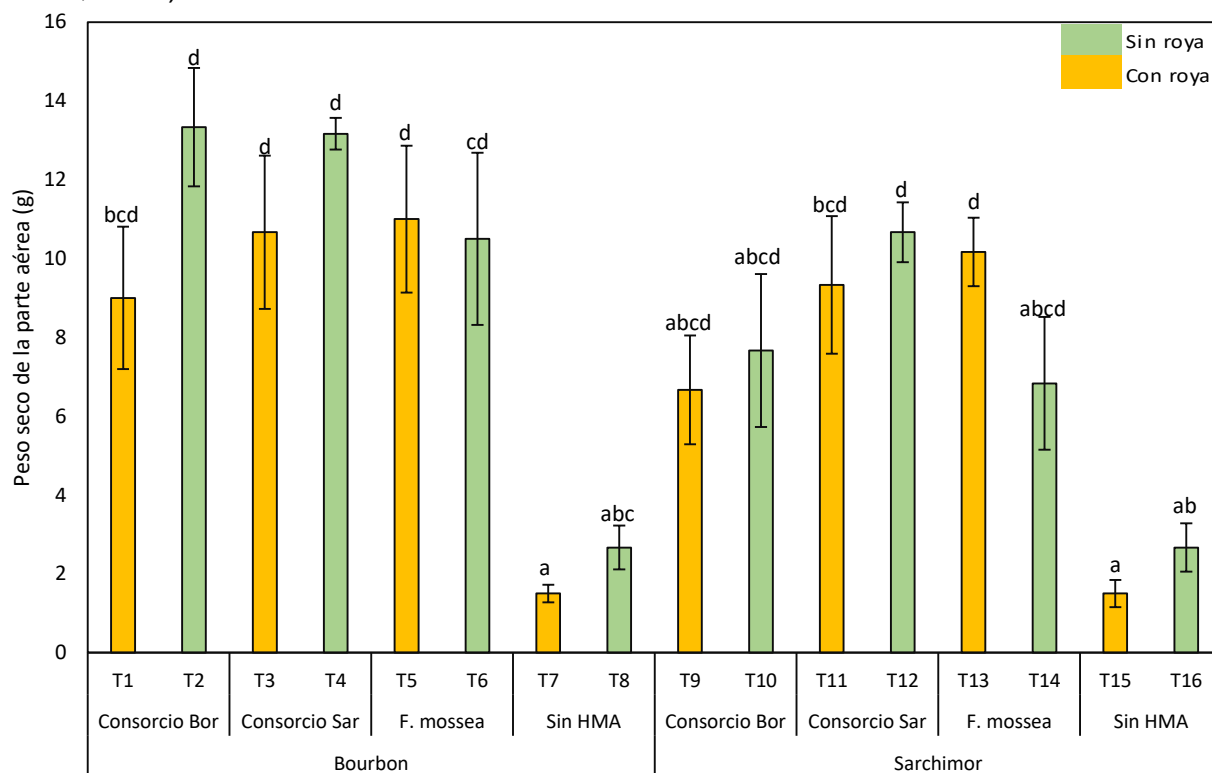


Figura 22. Efecto de los HMA en el peso seco de la parte aérea en las plantas de café de los diferentes tratamientos. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba Tukey ($p \leq 0.05$). La barra indica \pm el error estándar.

En esta investigación podemos observar en la Figura 22, la comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). con diferencias significativas para la variable del peso seco de la parte aérea de las plantas de café, se puede apreciar que los tratamientos de la variedad Bourbon fueron los que obtuvieron los mayores resultados con los tratamientos; T2 (Br.Cbor.Sr.), T4 (Br.Csar.Sr.), y T5 (Br.Fmos.Cr.), con 13.33, 13.16 y 11g respectivamente, sin diferencias significativas entre sí, con base en los resultados del testigo T7 (Br.Shma.Cr.) 1.5g de esta misma variedad, presentando un aumento con los HMA del área foliar del 888%. El beneficio de los HMA se relaciona típicamente con el incremento del peso seco de la parte aérea de las plantas

inoculadas, por lo que son de gran importancia económica para aplicación en la agricultura (De la Rosa *et al.*, 2012).

Los resultados de esta investigación fueron más sobresalientes que los reportado por, Del Aguilar (2016), quien obtuvo un aumento más del 303% en plantas inoculadas con HMA. Estos resultados afirmaron que la presencia de HMA en las raíces incrementan su tasa de crecimiento y producción de biomasa (Saboya, 2018).

En la variedad Sarchimor, también se demostraron los efectos positivos de los HMA (Consortios nativos y *Funneliformis mosseae*), en el peso seco de la parte aérea de las plantas. En la Figura 22, de esta misma variedad los mejores tratamientos fueron; T12 (Sar.Csar.Sr.), T13 (Sar.Fmos.Cr.) y T11 (Sar.Csar.Cr.) con 10.66, 10.16 y 9.33g respectivamente, sin diferencias significativas entre los tratamientos, únicamente con el testigo T15 (Sar.Shma.Cr.) 1.5 g, aumentando 710% del peso seco de la parte aérea, resultados muy satisfactorios. Sin embargo, no siempre se obtiene resultados tan efectivos con los HMA, ya que Adriano *et al.* (2011), quienes evaluaron el efecto de *R. intraradices* en plantas de café (Bourbon), hallaron incrementos del 19% con respecto a las plantas testigo. Por otro lado, Aguirre *et al.* (2011), reporto que no encontraron diferencias significativas a los 210 DDI, en este parámetro entre plantas micorrizas y sin HMA.

Pero son más las investigaciones que se han dado la tarea de utilizar los HMA en forma de consorcios obteniendo resultados muy interesantes en el peso seco de la parte aérea. Saboya (2018), reporto incrementos del 298%. Romero (2019), publico aumentos de 255%; estos datos concuerdan con lo propuesto por Alarcón *et al.* (2003), quienes indican que los HMA, favorecen el crecimiento de la parte aérea.

Los resultados de este trabajo resaltan la importancia de explorar la diversidad de HMA presentes en la rizósfera de las plantas de café orgánico que integran un ecosistema y con ello, seleccionar aquellas cepas o consorcios micorrízicos cuya diversidad funcional permita obtener mayor beneficio en las plantas a las que se dirige esta biotecnología, dando soluciones específicas a problemas específicos.

Se ha mencionado mucho que la utilización de los inóculos constituidos por más de una especie de HMA, presentan un mayor beneficio en sus hospedantes y que resultan

ser más efectivos que cuando son inoculados por una sola especie (Quiñones *et al.*, 2020). Sin embargo, al comparar los efectos producidos por *F. mossea* contra los de los consorcios Sar y Bor no hubo diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$). Esto puede indicar que la asociación simbiótica entre las variedades de café (Bourbon y Sarchimor) con esa especie, en las condiciones aquí probadas es igual de eficiente que la producida por los consorcios; aunque estos resultados parecieran contraponerse a la propuesta de que cada HMA desempeñan funciones y efectos particulares en el hospedante (Alva, 2019), es indudable que falta mucha exploración con respecto a los efectos de especies particulares en diferentes plantas y condiciones, como las trabajadas en este estudio.

Los resultados obtenidos fortalecen la hipótesis de que la comunidad de HMA presentes en la rizósfera de las plantas, tiene un efecto benéfico en el desarrollo vegetativo de la planta, por lo cual la utilización de los HMA como biofertilizante es una opción viable (Hernández, 2020). Los HMA como biocontrol, en esta investigación no lograron controlar la enfermedad de la roya al 100%, sin embargo detuvieron significativamente la severidad y la incidencia de los síntomas, por lo que se necesita hacer más investigaciones sobre el comportamiento de los HMA y la roya, ya que el incremento del uso constante de fertilizantes y agroquímicos han generado problemas en el medio ambiente, tales como el deterioro de la calidad del suelo, del agua superficial y de las aguas subterráneas, así como la contaminación del aire, la reducción de la biodiversidad y la represión de la función de los ecosistemas (Cruz, 2011).

5. CONCLUSION

El cultivo del café es un cultivo altamente biótrofo, debido al efecto positivo en las respuestas de las distintas variables de crecimiento, que se generaron en ambas variedades de café (Sarchimor y Bourbon), además demostró su efectividad en el biocontrol contra la roya *Hemileia vastratix*, ya que disminuyó el nivel de severidad y el porcentaje de incidencia en ambas variedades de café.

Por lo tanto, esta investigación será de gran impacto a todos los productores, organizaciones y empresas que se dedican a la producción de plantas de café, ya que al presentar un mayor crecimiento de las plantas al estar inoculadas indica que su permanencia en el vivero podrá reducirse, mejorando los costos de mantenimiento.

6. LITERATURA CITADA

- Acosta D. P. 2019. Aplicación de hongos micorrízicos arbusculares en la producción de plantas de selva baja caducifolia con fines de reforestación. Tesis Maestría. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Centro de Investigaciones Biológicas.
<http://riaa.uaem.mx/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/713/AOPDXN05T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Consultado el 22 de junio de 2021.
- Adriano A. M. L., R. Jarquín G., C. Hernández R., M. Figueroa S. y C. Monreal V. T. 2011. Biofertilización de café orgánico en etapa de vivero en Chiapas, México. *Rev. Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Vol. 2(3). 417-431 pp.
- Aguirre M. J. F., D. Moroyoqui O. M., A. Mendoza L., J. Cadena I., C. Avendaño A., J. Aguirre C. 2011. Hongo endomicorrízico y bacteria fijadora de nitrógeno inoculadas a *coffea arabica* en vivero. *Rev. Agronomía Mesoamericana*, vol. 22 (1). 71-80 pp.
- Alarcón A., M. González C. y R. Ferrera C. 2003. Crecimiento y fisiología de *Citrus volkameriana* Tan & Pasq en simbiosis con hongos micorrízicos arbusculares. *Rev. Terra Latinoamericana*, vol. 21 (4). 503-511 pp.
- Allian For Excellence, 2018. Taza de la excelencia. México. <https://allianceforcoffeexcellence.org/mexico-2018/>. Consultado el 14 de marzo de 2020.
- Alva P. J. F. 2019. Producción masiva de hongos micorrízicos arbusculares utilizando plantas trampa e inóculo de suelo rizosféricos de café proveniente de diferentes altitudes de San Martín. Tesis licenciatura. Universidad Nacional de San Martín. Perú. <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3587>. Consultado el 15 de julio de 2021.
- Álvarez S. F.J., P. Rodríguez G., y A. Alarcón. 2019. Biodiversidad de microorganismos en México. Importancia, aplicación y conservación. Editorial UNAM, Facultad de Ciencias, Ciudad de México. Pp. 104-155.

- ANACAFE. 2012. Recomendaciones para el control de la roya de café. Guatemala.
<http://www.anacafe.org>. Consultada el 05 de septiembre de 2019.
- Andrade T. A. 2010. Micorrizas: antigua interacción entre plantas y hongos. Tipos de micorrizas.
https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/61_4/PDF/11_MICORRIZAS.pdf. Consultado el 29 de diciembre de 2020.
- Aprile H. 2017. Suelo cafetalero: la importancia de la salud del suelo.
<https://asa.crs.org/2017/01/suelo-cafetalero-la-importancia-de-la-salud-del-suelo/>. Consultado el 10 de noviembre de 2021.
- Arellano, C.R. 2010. Marketing enfoque América Latina. México: Editorial Mc, México. Graw Hill.
- Arteaga A. E. 2019. Identificación de la diversidad y colonización de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) nativos, en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.), en cuatro provincias (El Dorado, Lamas, San Martín y Moyobamba) en la región San Martín. Tesis licenciatura. Universidad Nacional de San Martín.
<http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3529>. Consultado el 10 de mayo de 2021.
- Asociación Mexicana de Cafés y Cafeterías de Especialidad (AMCCE). 2016. La historia del café en México. <http://www.amcce.org.mx/letras-de-cafe/post/la-historia-del-cafe-en-mexico>. Consultado el 29 de enero de 2020.
- Avelino J., M. Cristancho, S. Georgiou, P. Imbach, L. Aguilar, G. Bornemann, P. Läderach, F. Anzueto, A. Hruska y C. Morales. 2015. "The coffee rust crises in Colombia and Central America (2008-2013): Impacts, plausible causes and proposed solutions". *Food Security* 7: 303-321.
- Barea J.M., R. Azcón, C. Aguilar C. 2002. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Journal of General and Molecular Biology*. 81: 343-351.
- Barrera S. E. 2009. El uso de hongos micorrizicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander.

No. 1 (7). <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v7n1/v7n1a14.pdf>. Consultado el 16 de marzo de 2021.

Bertolini V., N. Montaña M., B. Salazar O., E. Chimal S. y L. Varela. 2020. Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares en plantaciones de café (*Coffea arabica*) del volcán Tacaná, Chiapas, México. Rev. Acta Botánica Mexicana 27: e1602. DOI: 10.21829/abm127.2020.1602

Brundrett, M., N. Bougher D., t. Grove y N. Malajczuk. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberr.

Cabrales, E. M., M. Toro y D. López H. 2016. Efecto de micorrizas nativas y fósforo en los rendimientos del maíz en Guárico, Venezuela. <https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/temasagrarios/article/view/898/1102>. Consultado el 05 de octubre de 2019.

Calderón, E. G., G. Mora, J. Flores, G. Acevedo. 2013. Epidemiología de la roya del café y su aplicación en modelos pronóstico. Fundamentos de las acciones fitosanitarias. <http://publico.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp?IdDocumento=25440&IdUrl=60746&objeto=Documento&IdObjetoBase=25440&down=true>. Consultado el 10 de octubre de 2019.

Carballar H. S., L. Hernández V. C., A. Alarcón y R. Ferrera C. 2020. Microbiología aplicada a la agricultura y agroecosistemas. Técnicas básicas para el estudio de los micorrízicos arbusculares. Edi. Primera. 93-106 pp.

Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria "CEDRSSA". 2018. Reporte el café en México diagnóstico y perspectiva. Producción orgánica. <http://www.cedrssa.gob.mx/files/10/30EI%20caf%C3%A9%20en%20M%C3%A9xico:%20diagn%C3%B3stico%20y%20perspectiva.pdf>. Consultado el 22 de septiembre de 2019.

- Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria “CEDRSSA”. 2019. Investigación interna comercio internacional del café, el caso de México. <http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/94Caf%C3%A9%20-Producci%C3%B3n%20y%20Consumo.pdf>. México. Consultado el 15 de enero de 2020.
- Centro Nacional de investigaciones en café CENICAFE. 2019. La fertilización al suelo y foliar un componente básico para mantener la productividad en las empresas cafetaleras. <https://www.anacafe.org/uploads/file/bb1e602c37b148df897c61a5f1ba9682/Boletin-CEDICAFE-Mayo-2019-.pdf>. Consultado el 10 de mayo 2021.
- Centro Nacional de Investigaciones de Café (CENICAFE). 2016. La acidez del suelo, la limitante común para la producción de café. <https://www.cenicafe.org/es/publications/AVT0466.pdf>. Consultado el 03 de marzo de 2021.
- Chiquito I. N., J. Naranjo M., y M. Barcos A. 2018. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en especies representativas del bosque seco tropical del litoral ecuatoriano. *Rev. Bionatura*. 3(1), 524-526 pp.
- Clavijo P. N. 2013. Entre la agricultura convencional y la agroecología. El caso de las prácticas de manejo en los sistemas de producción campesina en el municipio de Sylvania. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/12482/CaldasMejiaRobertoFelipe2013.pdf?sequence=1>. Consultado el 30 de diciembre de 2020.
- Colonia, L. M. 2012. Manejo integrado de plagas en el cultivo del café. Oficina académica de extensión y proyección social. Perú. <https://www.agrobanco.com.pe/data/uploads/ctecnica/011-k-cafe.pdf>. Consultado el 24 de septiembre de 2019.
- Contreras T. J. 2016. Hongos micorrízicos de plantaciones de teca (*tectona grandis* L.) y su potencial como biofertilizantes en plántulas a nivel de vivero. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Maestría en manejo y aprovechamiento forestal.

Ecuador. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/1727/1/T-UTEQ-0020.pdf>. Consultado el 20 de enero de 2020.

Cruz A. L. 2011. Uso y aplicación de biofertilizantes microbianos y orgánicos en sistemas de agroplasticultura. Centro de Investigación en Química Aplicada. <https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/401/1/Lisbeth%20Cruz%20Alonso.pdf>. Consultado el 20 de septiembre de 2021.

De la Rosa C. M., R. Ferrera C., A. Alarcón, M. Sánchez C. y A. Franco R. 2012. Aislamiento de consorcios de hongos micorrízicos arbusculares de plantas medicinales y su efecto en el crecimiento de vinca (*Catharanthus roseus*). Rev. Chilena de Historia Natural. No. 85. 187-198 pp.

Del Aguilar K. M. 2016. Efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares a plántones de café (*coffea arabica*), variedad caturra a nivel de vivero en la región San Martín. Tesis licenciatura. Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto. Facultad de Ciencias Agrarias. http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/826/TP_AGRO_00698_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Consultado el 12 de junio de 2021.

Del Aguilar K. M., G. Vallejos T., L. Arévalo A. y A. Becerra G. 2018. Inoculación de Consorcios Micorrízicos Arbusculares en *Coffea arabica*, Variedad Caturra en la Región San Martín. Revista La Serena. vol.29 (1). 137-146 pp.

Díaz F. A., M. Alvarado C., F. Ortiz C. y O. Grageda C. 2013. Nutrición de la planta y calidad de fruto de pimiento asociado con micorriza arbuscular en invernadero. Rev. Mexicana de Ciencias Agrícola. Vol. 4 (2). 315-321 pp.

Escamilla P. E. 2016. Una REDD para Salvar la Sombra de la Sierra Madre de Chiapas. Las variedades de café en México ante el desafío de la roya. http://pmcarbono.org/pmc/descargas/proyectos/redd/Breves_de_Policas_Publicas_No.4-Variedades_de_cafe_en_Mexico.pdf. Consultado el 15 de marzo de 2021.

Fernández M. F., A. Rivera R., A. Hernández J., A. Herrera P. y K. Fernández S. 2005. Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares y diferentes relaciones suelo:

humus de lombriz sobre el crecimiento del cafeto (*Coffea arabica* L.) cv. Catuaí bajo la etapa de vivero. Rev. Chapingo serie horticultura-México. Vol. 11(1). 175-184 pp.

Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA) (2016). Panorama Agroalimentario: Café 2016 [en línea]. Disponible en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200636/Panorama_Agroalimentario_Caf__2016.pdf. Consultado el 20 de diciembre de 2019.

Florez, J.C., L. Souto M., L. do Livramento F. R., S. Siqueira F., E. Maciel Z., M. Falsarella C., L. Zambolim y E. Teixeira C. 2017. High throughput transcriptome analysis of coffee reveals prehaustorial resistance in response to *Hemileia vastatrix* infection. Plant Molecular Biology. doi 10.1007/s11103-017-0676-7.

Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias "FONAIAP". 1984. Roya del cafeto (en línea). Venezuela. Disponible en http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd14/texto/royad elc afeto.htm. Consultado el 14 de octubre de 2020.

García N.G. & Hidalgo J. E. 2019. Efficacy of indigenous and commercial *Simplicillium* and *Lecanicillium* strains for controlling *Hemileia vastatrix*. Rev. Mexican Journal of Phytopathology. Vol. 37 (2). 1-14 pp.

García R. M. y R. Perez L. 2003. Fitoalexinas: Mecanismo de defensa de las plantas. Rev. Chapingo. Serie forestales y del ambiente. Universidad Autónoma de Chapingo. Vol. 9 (01). 5-10 pp.

García, R. D. A. 2013. Incidencia y severidad de la roya del café (*Hemileia vastatrix*) y evaluación de alternativas químicas para su control; Universidad Rafael Landívar. Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas. <http://biblio3.url.edu.gt/Tesario/2013/06/17/Garcia-Deyvid.pdf>. Consultado el 29 de septiembre de 2019.

Garzón L. P. 2016. Importancia de las micorrizas arbusculares (ma) para un uso sostenible del suelo en la amazonia colombiana. Universidad de Caldas. Rev. Luna azul. No. 42. 217- 234 pp.

- Gederman J. W y T. Nicolson. 1963. Spores of Mycorrhizal Endogone species extracted by wet sieving and decanting. Transactions of the British Mycological Society 46: 235-244 doi: 10.1016/S0007-1536(63)80079-0
- Gómez De la C. I., E. Pérez P., E. Escamilla P., M. Martínez B., G. Carrión V., T. Hernández L. 2017. Selection in vitro of mycoparasites with potential for biological control on Coffee Leaf Rust (*Hemileia vastatrix*). Revista Mexicana de Fitopatología 36(1) 172-183. DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1708-1
- González A. A. 2010. Factores de sostenibilidad para la caficultura en un ambiente de cambio climático. Maestría en gerencia ambiental. Universidad de los andes. <https://www.researchgate.net/publication/282441615>. Consultado el 15 de enero de 2020.
- González I., D. Infante, B. Peteira, Y. Arias, N. González Y I. Miranda. 2011. Biochemical characterization of promising isolates of Trichoderma spp. as biological control agents. II. Expression of glucanase activity. Rev, de Protección Vegetal Vol. 26. 23-29 pp.
- Gruden K., J. Lidoy, M. Petek, V. Podpečan, V. Flors, K. Papadopoulou K, M. Pappas L., A. Martinez M., E. Bejarano, A. Biere y M. Pozo J. 2020. Ménage à Trois: Unraveling the Mechanisms Regulating Plant–Microbe–Arthropod Interactions. Rev. Trends in Plant Science. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.07.008>. Consultado el 28 de abril de 2021.
- Guachanamá S. J. A. 2020. Aislamiento e identificación morfológica de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) asociados al café en sistemas agroforestales en el sur. Tesis Licenciatura Agronomía. Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables. Universidad Nacional de Loja. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/23606>. Consultado el 10 de junio de 2021.
- Guerra G. L., M. do Céu S., C. Struck, A. Loureiro, M. Nicole, C. Rodrigues y C. Ricardo. 2009. Chitinases of *Coffea arabica* genotypes resistant to orange rust *Hemileia vastatrix*. Rev. Biologia Plantarum. Vol. 53(4). 702–706 pp.

- Gutiérrez V. F. O., M. Abud A., A. Flores P., J. Álvarez S. D. y F. Gutiérrez M. A. 2009. Influencia de los hongos micorrizicos arbusculares sobre el crecimiento de vitro plántulas de piña (*ananas comosus* (l.) merr.) con diferentes niveles de fosforo. Rev. Botanica Gayana. Vol. 66(1): 1-9 pp.
- Henderson T. P. 2019. La roya y el futuro del café en Chiapas. Cafetales más vulnerables a la roya. Rev. Mexicana de sociología. Vol. 81 (2).
- Hernández C. E., D. Trejo A., A. Rivera F. y R. Ferrera C. 2020. La micorriza arbuscular como biofertilizante en cultivo de café. Rev. Terra Latinoamericana. Vol. 38 (3). 613-628 pp.
- Hernández E. A. D. Trejo A., R. Ferrera C., A. Rivera F. Y M. González C. 2018. Hongos micorrizicos arbusculares en el crecimiento de café (*Coffea arabica* l.) variedades Garnica, Catimor, Caturra y Catuaí. Rev. Agroproductividad. Vol. 11 (4). 61-67 pp.
- Hernández, M.I. Y M. Chauilloux, 2004. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como complemento de la nutrición mineral de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Revista Cultivos Tropicales. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, Cuba. 25(2): 3-8 pp.
- Hernández-Cuevas, L. y R. García-Sánchez. 2008. Propagación por esporas: el caso de las micorrizas arbusculares In: Álvarez-Sánchez, J. y A. Monroy-Ata (Comps.): Técnicas de estudio de las asociaciones micorrizicas y sus implicaciones en la restauración. Las prensas de Ciencias-UNAM, México, D. F. México. pp. 29-42.
- Herrera M. S., R. Castro B., J. Pérez M. y E. Valdés V. 2019. Diversidad endomicorrícica en plantas de café (*Coffea arabica* L.) infestadas con roya (*Hemileia vastatrix*). Revista de investigación de la Universidad De La Salle Bajío. No. 22. <http://www.scielo.org.mx/pdf/ns/v11n22/2007-0705-ns-11-22-102.pdf> Consultado el 16 de octubre de 2019.
- Higuera I. C. y J. Rivera R. 2018. Chiapas: Problemáticas del sector cafetalero. Antecedentes. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del

Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ).
<https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/645/1/Problematicas%20del%20sector%20cafetalero.pdf>. Consultado el 15 de diciembre de 2019.

Honorato, J., L. Zambolim, P. Aucique, R. Resende y F. Rodrigues. 2015. Photosynthetic and antioxidative alterations in coffee leaves caused by epoxiconazole and pyraclostrobin sprays and *Hemileia vastatrix* infection. *Rev. Pesticide Biochemistry and Physiology*, 123, 31–39 pp. doi:10.1016/j.pestbp.2015.01.016.

Instituto del Café de Costa Rica “ICAFFE”. 2011. Guía Técnica para el Cultivo del Café. Aspectos generales del cultivo de café. Litografía e imprenta LIL, Costa Rica. 3 p.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2008. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Montecristo de Guerrero, Chiapas. http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/07/07117.pdf. Consultado el 22 de marzo de 2021.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2014. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Marco Geoestadístico. Versión 3.1. Frailesca, Chiapas.

Jung S. C., A. Martínez M., J. López R. y M. Pozo J. 2012. Mycorrhiza-Induced Resistance and Priming of Plant Defenses. Department of Soil Microbiology and Symbiotic Systems, Estación Experimental del Zaidín (EEZ). *Rev. J Chem Ecol* No. 38. 651–664 pp.

Ley J. F. R., J. Sánchez A., N. Esther R. y E. Collazo. 2015. Efecto de cuatro especies de hongos micorrizógenos arbusculares en la producción de frutos de tomate. *Rev. Agronomía Costarricense*. Vol. 39(1). 47-59 pp.

Libert A. A. y F. Paz P. 2018. Del papel a la acción en la mitigación y adaptación al cambio climático: la roya del cafeto en Chiapas. *Roya y cambio climático*. *Rev.*

- Madera y bosques. Vol. 24. <https://doi.org/10.21829/myb.2018.2401914>. Consultado el 15 de marzo de 2021.
- López G.F.J., E. Escamilla P., A. Zamarripa C. Y J. G. Cruz C. 2016. Producción y calidad en variedades de café (*Coffea arabica* L.) en Veracruz, México. *Fitotecnia Mexicana*. 39(3): 297-298.
- Luján H. M.C., L. Jiménez A. A., N. Ruiz L., S. Reyes Z. J. y F. Gutiérrez A. M. 2020. Biochemical changes in response to rust attack in coffee plantations. *Rev. Polibotánica*. Núm. 49: 149-160 pp. DOI: 10.18387/polibotanica.49.10.
- Madriz, O. K. 2002. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. *Rev. Manejo Integrado de Plagas*. Vol. 63. 22-32pp.
- Medina M. J A., Ruiz N. R. E., Gómez C. J. C., Sánchez Y. J. M., Gómez A. G., Pinto M. O. 2016. Estudio del sistema de producción de café (*Coffea arabica* L.) en la región Frailesca. Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Ciencias Agronómicas, Campus V. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. *Revista Ciencia UAT*. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Pág. 34
- Moisés M. L., Y. Tamayo A. y F. Bazarra A. 2015. Alternativa ecológica y económica para la obtención de postura de *Coffea arabica* L. Universidad de Guantánamo. Cuba. *Rev. Ciencias agrícolas*. Vol. 32 (1). 65-74 pp.
- Montaya R. E. C., J. Hernández D. A., C. Unigarro M. A. y C. Flórez R. 2017. Estimación del área foliar en café variedad Castillo a libre exposición y su relación con la producción. *Rev. Cenicafé*. Vol.68 (1). 55-61 pp.
- Monteiro, A. C. A., V. de Resende, M. L., T. Valente, T. C., M. Ribeiro J. P., F. Pereira, V., R. da Costa, J., y G. da Silva, J. A. 2016. Manganese phosphite in coffee defence against *Hemileia vastatrix*, the coffee rust fungus: Biochemical and Molecular Analyses. *Rev. Journal of Phytopatholog*. Vol. 164, 1043–1053 PP.
- Montoya M. A. C. 2014. Hongos micorrizicos como biofertilizantes y agentes de control biológico contra *Fusarium oxysporum* en *Agave tequilana*. Tesis Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/1881/IIAF-M-2014-0456.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Consultado el 22 de marzo de 2021.

Mosquera A. T., M. Melo, C. Quiroga G., D. Avendaño M., M. Barahona, F. Galindo D., J. Lancheros J., S. Prieto A., A. Rodríguez y D. Sosa N. 2016. Evaluación de fertilización orgánica en cafeto (*Coffea arabica*) con pequeños productores de Santander, Colombia. Rev. Temas agrarios. No. 1 (21). 90 – 101 pp.

Mujica Y. P. y L. Molina D. 2017. Influencia de hongos micorrízicos arbusculares (*Rhizoglyphus intraradices*) y un estimulador del crecimiento vegetal en *Pennisetum purpureum* Sch. cv. Cuba CT-115. Rev. Cultivos Tropicales. Vol. 38 (1). 131-137 pp.

Napoleón I. J. y M. Cruz A. V. 2005. Guía técnica de semilleros y viveros frutales. Ministerio de agricultura y ganadería. <http://repiica.iica.int/docs/B0507e/B0507e.pdf>. Santa Tecla, Salvador. Consultado el 10 de septiembre de 2021.

Nazareno M. C., M. Ruscitti F. y M. Arango C. 2020. Micorrizas arbusculares. Biología y aplicaciones en el sector agro-forestal. Universidad Nacional de la Plata. <https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/book/1504>. Consultado el 15 de agosto de 2021.

Ortega P. E., B. Eduardo; B. de la Noval M., B. Martínez C., W. Torres N., A. Medina C., A. Hernández y O. León. 2015. Inducción de mecanismos de defensa en plantas de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) micorrizadas frente al ataque de *Oidiopsis taurica* (Lev.) Salm. Rev. Cultivos Tropicales. Vol. 36 (1). 98-106 pp. Consultado el 29 de marzo de 2020.

Padron R. L., R. Arias M., R. Medel O. y Y. De la Cruz E. 2019. Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y una cepa fosfato solubilizadora en *canavalia ensiformis* (fabaceae). Rev. Botanical Sciences. Vol. 92 (2). 64-73 pp.

Paillacho C. F. I. 2010. Evaluación de la efectividad de las micorrizas arbusculares nativas sobre el desarrollo y estado nutritivo del palmito (*Bactris gasipaes* hbk)

en etapa de vivero, en Santo domingo de los Tsáchilas. Escuela Politécnica del Ejército. <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2892/1/T-ESPE-IASA%20II-002332.pdf>. Consultado el 15 de noviembre de 2021.

Palomares, R. J. A., J. D. González S., S. C. Mireles. 2012. Investigación: Café orgánico en México. ¿Qué es el café? Universidad Autónoma de México. <http://infocafes.com/portal/wp-content/uploads/2017/05/cafe-organico-terminado.pdf>. Consultado el 08 de septiembre de 2019.

Perea R. Y., R. Arias M., R. Medel O., D. Trejo A., G. Heredia y Y. Rodríguez Y. 2018. Effects of native arbuscular mycorrhizal and phosphate-solubilizing fungi on coffee plants. *Rev. Agroforest Syst.* DOI: 10.1007/s10457-018-0190-1. Consultado el 27 de diciembre de 2021.

Pérez Z. 2016. XXVII Seminario regional cafetalero. Centro de investigación del café. <https://docplayer.es/88510936-Xxvii-seminario-regional-cafetalero-perez-zeledon-2016.html>. Consultado el 26 de enero de 2020.

Posada R. H., M. Sánchez de P., G. Abarca H., y E. Sieverding. 2016. Effects of soil physical and chemical parameters, and farm management practices on arbuscular mycorrhizal fungi communities and diversities in coffee plantations in Colombia and México. *Rev. Agroforestry Systems* 92(2): 555- 574.

Prates P.J., B. Coutinho M., M. Soares C.S., T. Gomes R. V., S. Sturmer L., R. Alves B. F., E. Mendonca S. y M. Megumi C. K. 2019. Agroecological coffee management increases arbuscular mycorrhizal fungi diversity. *PLoS ONE* 14(1): e0209093 (1-19). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209093>. Consultado el 15 de julio de 2021.

Prieto B. O., C. Belezaca P., E. Pinargote M., E. Vallejo Z., V. Gutiérrez L. y W. Mora F. S. 2011. Inoculación de *Brachiaria decumbens* con hongo formadores de micorriza arbuscular nativos del trópico húmedo ecuatoriano. *Rev. Ciencia y tecnología*. Vol. 4(2): 9-18 pp.

Pozo, M. J., C. Cordier., E. Dumas G., S. Gianinazzi., J. Barea M. y C. Azcón A. 2002. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defense

- responses to Phytophthora infection in tomato plants. J. Exp. Bot. 53(368):525-534.
- Quiñones A. E. E., E. Hernández A., G. Rincón E. y R. Ferrera C. 2012. Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya. Rev. Terra Latinoamericana. Vol.30 (2). 165-176 pp.
- Quiñones A. E. E., L. Hernández C., L. López P. y G. Rincón E. 2019. Efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de rizósfera de Agave como promotores de crecimiento de papaya. Rev. Terra Latinoamericana. Vol. 37. 163-174 pp.
- Quiñones A. E. E., G. Rincón E. y L. López P. 2020. Hongos micorrízicos nativos como promotores de crecimiento en plantas de guayaba (*Psidium guajava* L). Rev. Terra Latinoamericana Número Especial 38-3: 541-554. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.646>. Consultado el 15 junio de 2021.
- Rayner, R. W. 1961. Germination and penetration studies on coffee rust (*Hemileia vastatrix* B. & Br.) Annals of Applied Biology 49, 497-505.
- Reyes T. A., E. Quiñones A., G. Rincón E. y L. López P. 2016. Micorrización en *Capsicum annum* L. para promoción de crecimiento y bioprotección contra *Phytophthora capsici* L. Rev. Ciencias Agrícolas. Vol. 7 (4). 857-870 pp.
- Riveros A. A. 2010. Aplicación práctica de inductores bióticos para el manejo de enfermedades en especies agroforestales tropicales. Inducción de resistencia en plantas: Interacción planta-patógeno. Agroamérica. San José, Costa Rica pp. 145-161.
- Rivillas O. C. A., C. Angel C. A. y C. Calle M. 2019. Micorriza arbuscular. Aplicación de ciencia, tecnología e innovación en el cultivo del café ajustado a las condiciones particulares del huila. <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/4223/1/Cap03.pdf>. Consultado el 20 de agosto de 2021.
- Rivillas O.C., C. Serna., M. Cristancho A. y A. Gaitan B. 2011. La roya del cafeto en Colombia. Impacto, manejo y costos del control. Ministerio de comercio,

industria y turismo. Colombia.
<https://www.cenicafe.org/es/publications/bot036.pdf>. Consultado el 20 de septiembre de 2019.

Robles P. C. 2006. Hongos de micorriza arbuscular en diferentes sistemas de producción de maguey mezcalero (*Agave angustifolia* haw.) en Oaxaca. Tesis. Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales. Instituto Politécnico Nacional.
http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx/jspui/bitstream/LITER_CIIDIROAX/24/1/L%C3%B3pez%20Guerra%2C%20I.%20F..pdf. Consultado el 12 de mayo de 2021.

Rodríguez M. V., A. Soto E., J. Pérez M. y P. Negreros C. 2011. Los hongos micorrízicos arbusculares y su implicación en la producción y manejo de especies neotropicales forestales, con énfasis en meliáceas. *Rev. Interciencia*. Num. 8 (36), 564-569 pp. Caracas, Venezuela.

Romero C. L. E. 2019. Bioprotección de plantas de café a *Hemileia vastatrix*, aplicando consorcios de hongos micorrízicos arbusculares nativos, en vivero, provincia de Lamas. Universidad Nacional de San Martín–Tarapoto. Facultad de Ciencias Agrarias.
<https://tesis.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/3826/AGRONOM%C3%8DA%20-%20Lorena%20Romero%20Chavez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Consultado el 12 de noviembre de 2021.

Romero O. A. 2020. Los hongos frente al cambio climático y el futuro de nuestros ecosistemas. Department of Natural Resources and the Environment. University of New Hampshire. Seminario virtual del IBUNAM.
<https://youtu.be/neMbGhFrHRA>. Consultado el 16 de junio de 2020.

Ruscitti M. 2017. Hongos benéficos como bioinsumos en la producción hortícola: potencialidades y desafíos. Seminario de microorganismos benéficos y otros bioinsumos.
https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_seminario_microorganismos_marcela_ruscitti_infive_unlp.pdf. Consultado el 22 de marzo de 2021.

Saboya P. A. 2018. Evaluación del efecto bioprotector de hongos micorrízicos arbusculares nativos sobre roya (*Hemileia vastatrix*) en café (*Coffea arabica*) variedad caturra bajo condiciones de vivero en la Región San Martín. Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto. Facultad de Ciencias Agrarias. Tesis Licenciatura. Perú. <https://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3272>. Consultado el 10 de octubre de 2021.

SAGARPA. 2017. Obtenido de http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/Paginas/JAC_00264_03.aspx. Consultado el 14 de marzo de 2020.

Sánchez, A. L. L. 2015. Variación de la población de hongos micorrízicos arbusculares en un suelo agrícola por efecto de la aplicación de vinazas de la industria del tequila. Tesis Maestría en Ciencias. Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco, A.C. Pp. 6-9.

Schenck, N.C., Y. Pérez, 1990. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi (3th ed.). Synergistic Publications, Gainesville.

Schüßler, A., D. Schwarzott, C. Walker, 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413-1421.

Schüßler, A., C. Walker, 2010. The Glomeromycota. A species list with new families and new genera. Gloucester.

Secretaría de medio ambiente y recursos naturales, 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudios, muestreos y análisis. Segunda sección. <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69255.pdf>. Consultado el 20 de enero de 2020.

Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2013. Manual técnico para el manejo preventivo de la roya del café. <http://www.royacafe.lanref.org.mx/Documentos/Manualtecnicoroya.pdf>. Consultado el 16 de marzo de 2021.

- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2018. Manual Técnico Operativo 2018, para la Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria en el Cultivo del Cafeto. <https://prod.senasica.gob.mx/SIRVEF/ContenidoPublico/Roya%20cafeto/Estrategia%20operativa/ManualOperativoRoyaCafeto.pdf>. Consultado el 20 de diciembre de 2020.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria SENASICA. 2019. Micorrizas Arbusculares. Aplicación de ciencia, tecnología e innovación en el cultivo del café ajustado a las condiciones particulares del Huila. <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/4223/1/Cap03.pdf>. Consultado el 13 de agosto de 2021.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera “SIAP”. 2016. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola en México. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. En línea: <http://www.siap.gob.mx>. Consultado el 10 de septiembre de 2019.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera “SIAP”. 2019. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Consultado el 24 de septiembre de 2019.
- StatPoint Inc. 2005. Statgraphics® Centurion XVI Manual De Usuario. StatPoint Technologies, Inc. <https://www.statgraphics.net/wp-content/uploads/2015/03/Centurion-XVI-Manual-Principal.pdf> Consultado el 20 de octubre de 2019.
- Swamy M.K., M. Akhtar S. y U. Sinniah R. 2016. Root Exudates and their molecular interactions with rhizospheric microbes. In: Hakeem K., Akhtar M. (eds) Plant, Soil and Microbes. Springer.438 p.
- Tapia, J., R. Ferrera, L. Varela, J. Rodriguez, J. Soria, M. Tiscareño, M. Loredo C., J. Alcalá y C. Villar. 2010. Infectividad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). Rev. Mexicana de Micología Vol. 31. 69-74.

- Tarquini S. 2019. Interacción de microorganismos benéficos (bacterias y hongos micorrízicos arbusculares) sobre la tolerancia en plantas al déficit hídrico en zonas semiáridas. Microbiología. <https://interacciones-microbiologicas.blogspot.com/>. Consultado el 20 de diciembre de 2021.
- Terry E., J. Ruiz, T. Tejada, T. y M. Díaz. 2013. Respuesta del cultivo de la habichuela (*Phaseolus vulgaris* L. var. Verlili) a la aplicación de diferentes bioproductos. Cultivos Tropicales, 34(3), 5-10. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v34n3/ctr01313.pdf>. Consultado el 15 de junio de 2021.
- Trejo A. D., R. Ferrera C., R. García, L. Varela, L. Lara, y A. Alarcón. 2011. Effectiveness of native arbuscular mycorrhizal fungi consortia on coffee plants under greenhouse and field conditions. Rev. Chilena de Historia Natural. Vol. 84(1), 23-31 pp.
- Trejo A. D., R. Ferrera C., W. Sangabriel C. y Y. Baeza. 2018. Efecto de la micorriza arbuscular en plantas de café (*Coffea arabica* L.) infectadas por el nematodo de la corchosis de la raíz. Rev. Agroproductividad. Vol. 11 (4). 98-104 pp.
- Trinidad C. J. R. 2014. Hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizósfera de agave cupreata: riqueza de especies, cultivo in vitro, promotores del crecimiento y agentes de control biológico. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. Pág. 12.
- Vallejos T. G., A. Saboya P. y A. Arevalo L. L. 2021. Efecto Bioprotector de Micorrizas Arbusculares en la Reducción de Roya (*Hemileia vastatrix*) en la Región San Martín. Rev. Agrotecnológica Amazónica. Vol. 1(1), 34-44 pp. <https://doi.org/10.51252/raa.v1i1.122>
- Vásconez L. 2021. Crisis mundial de fertilizantes impactará producción de alimentos en Ecuador. El comercio. <https://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/crisis-fertilizantes-produccion-alimentos-ecuador.html>. Consultado el 14 de diciembre de 2021.

- Virginio, E. y Astorga C. 2015. Prevención y control de la roya del café. Manual de buenas prácticas para técnicos y facilitadores. 131 ed. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Pp.12-15
- Word Coffee Research. 2018. Las variedades del café arábica. https://worldcoffeeresearch.org/media/documents/las_variedades_del_cafe_arabica_v2_feb_2018.pdf. Consultado el 28 de noviembre de 2021.
- Wu Q., G. Li Y. Zou. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient acquisition of peach (*Prunus persica* L. Batsch) seedlings. The Journal of Animal & Plant Sciences 21: 746-750.
- Zapata O. I. 2018. Caracterización morfológica, productiva y sanitaria de variedades de café arábigo (*Coffea arábigo*) de alta producción y resistencia a roya anaranjada en la zona de Caluma. Universidad Estatal de Bolívar. https://cidecuador.org/wp-content/uploads/congresos/2018/x-congreso-de-investigacion-en-ciencias-agronomicas-veterinarias-y-zootecnia/diapo/caracterizacion-morfologica-productiva-y-sanitaria-de-variedades-de-cafe-arabigo-de-alta-produccion_illanes-olmedo.pdf. Consultado el 10 de agosto de 2021.
- Zitácuaro C. F. H. y A. Aparicio R. Variación de altura y diámetro de plántulas de *Pinus oaxacana* Mirov de tres poblaciones de México Foresta Veracruzana. Vol 6(1). 21-26 pp. Recursos Genéticos Forestales Xalapa, México.