



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS, CAMPUS V



“Biofertilización con *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense* en cuatro variedades de *Coffea arabica* L. en vivero”

TESIS

que para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA
TROPICAL**

Presenta:

ZOILA DEL CARMEN ANZUETO HERÓN PS2087

Director de tesis:

Dr. Juan Francisco Aguirre Medina

Huehuetán, Chiapas, México
Febrero, 2023



Villaflores, Chiapas
21 de febrero de 2023
Oficio N° D/0202/23

C. ZOILA DEL CARMEN ANZUETO HERÓN
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: "**Biofertilización con *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense* en cuatro variedades de *Coffea arabica* L. en vivero**", por este conducto 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"

M. C. CARLOS ALBERTO VELÁZQUEZ SANABRIA
DIRECTOR



DIRECCIÓN

C. c. p. Archivo

CAVS*marh.



Código: FO-113-05-05

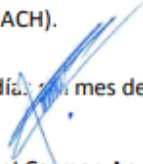
Revisión: 0

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

El (la) suscrito (a) Zoila Del Carmen Anzueto Herón, Autor (a) de la tesis bajo el título de "Biofertilización con *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense* en cuatro variedades de *Coffea arabica* L. en vivero," presentada y aprobada en el año 2023 como requisito para obtener el título o grado de Maestra en Ciencias en Producción 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 08 días 08 mes de febrero de 2023.


Zoila Del Carmen Anzueto Herón
Nombre y firma del Tesista o Tesistas

Dedicatorias

A Dios, por qué en ti confío mi vida y sé, que el destino que marcaste para mí, es en los tiempos de tu designio, y no en el mí,-por qué ninguna hoja cae del árbol y ninguna gota de lluvia se presenta sino es por tu voluntad, por ello te dedico cada párrafo y cada resultado de esta investigación.

A mis padres, **Isabel Herón Avendaño[†]** y **Mario Anzueto González[†]** quienes me enseñaron a amar la vida y vivir con pasión cada instante en el que respiro, por qué los extraño mucho y no dejo de suspirar por ustedes, pero sé que desde el cielo cuidan cada uno de los pasos que damos como familia, los amo y los llevo en mi corazón en cada latido.

A mí hija **Abryl Anzueto Herón**, a ti la obra maestra de mi vida y de mí existir, por qué me enseñaste a nunca derrotarme, a seguirme superando día a día, y por qué en las noches de estudio jamás me abandonaste, al contrario me motivas a seguir adelante; así quiero que continúes con esa dedicación en tu propia vida, TE AMO.

A mis hermanos, **Mario Iván, Nadya Annel, Nidia Isabel y Neiva Elizeth**, quienes amo, y disfruto, en cada momento en los que me hacen reír, enojar, y sufrir porque están lejos; y sobre todo porque juntos somos unos locos que nadie comprende.

A mis sobrinos, **Fernando Iván, Krystal Esmeralda, Keyla Nazaret, Mario Alí, Vannya Isabela, Jade Esmeralda, Perla Rubí, Jonathan Oswaldo, Joselyn Andrea, Paola, Coral**, y a mi nieto **Fernando Damián**, porque son todos mis hijos y mientras viva los cuidaré, apoyaré; y regañaré siempre, simplemente porque los seguiré viendo como mis pequeños bebés.

A mis cuñados, **Nelci, Ramón y Felipe** por apoyar siempre a la familia y por su inmenso amor.

A mis **muy queridos amigos**, y todas las personas que colaboraron arduamente conmigo para que esta aventura, fuera una realidad, en verdad ¡gracias!

Agradecimientos.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología**, por el financiamiento de esta investigación a través de la beca nacional con número **CVU 719127**.

A la **Facultad de Ciencias Agrícolas Campus IV**, de la Universidad Autónoma de Chiapas por el uso de las instalaciones y acompañamiento brindado.

A mi **Consejo Tutorial**, por la paciencia y los momentos de enseñanza:

Dr. Juan Francisco Aguirre Medina, agradezco a Dios que lo cruzará en mi camino profesional, sobretodo porque a través del tiempo me brindo su amistad, confianza, y me contagio la pasión por los microorganismos, lo quiero muchísimo doctor; gracias por tanto conocimiento compartido, sabe que puede contar conmigo incondicionalmente.

Dr. Pedro Cadena Iñiguez, quien desde hace tiempo tiene mi amistad y admiración; y quien siempre me ha impulsado y motivado como extensionista porque su amor por transmitir el conocimiento es única y motivadora, nunca cambie.

M.C. Guillermo Armando Zavala Mata, a usted, mil gracias, por ser la persona responsable de que esta travesía iniciara, siempre estaré agradecida por ello.

Dr. Alfredo Isaac Brindis Santos, por su apoyo moral, y por estar siempre pendiente de cada paso en esta investigación, en verdad muchas gracias.

Al **Dr. Gustavo Enrique Rojo Martínez**, por sus aportaciones estadísticas a esta investigación.

Al **Comité de Fomento y Protección Pecuaria del Estado de Chiapas**, por el uso de las instalaciones del laboratorio, durante el muestreo destructivo de las plantas.

Al **Sr. José Luis Pérez Cervantes** y el **Ing. Juan Pedro Martínez Marroquín**, del vivero de café en Ocozocoautla de Espinosa, por las facilidades y conocimiento que brindaron en los primeros meses de investigación y los productores Gómez Nucamendi.

A mi mejor amigo **Mario Ernesto**, y a la familia **Gómez Solís** del **Rancho San José**, Mpio. La Concordia, por las atenciones que tuvieron durante mi larga estancia en la finca.

A los C.C. Ing. Alejandra, la MVZ Dalia, Ing. Jen, el MVZ Adrián, Ing. Dulce, Lic. Any, Lic. Pepe, Sra. Guille, MVZ Castro, Ing. Viviana y el Ing. Carlos, por sus conocimientos y apoyo infinito.

A los **profesores de la Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical**, (especialmente, y con mucho cariño a la **Dra. Lú Zaragoza**, por despertar mi potencial, mi motivación y por qué me enseñó a no solamente hacer las cosas bien, si no extraordinarias) que durante los cuatrimestres nos brindaron aprendizaje. A todos Ustedes **¡Gracias!**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL

Esta tesis titulada **BIOFERTILIZACIÓN CON *Rhizophagus intraradices* Y *Azospirillum brasilense* EN CUATRO VARIEDADES DE *coffea arábica* L. EN VIVERO** fue financiada con recursos del **CONACyT** a través de la beca nacional con número **CVU 719127**, bajo la dirección del **DR. JUAN FRANCISCO AGUIRRE MEDINA**.

Se incluye en la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento **LGAC-** Manejo Agroecológico de Cultivos, **RESPONSABLE**

Se incluye en la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento del Cuerpo Académico **CONSOLIDADO DE AGRICULTURA TROPICAL ECOLÓGICA UNACH-68**, del Programa de Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical. Consolidado.

}

Índice

I. INTRODUCCIÓN.	1
1.2. Planteamiento del Problema.	2
1.3 Justificación.	2
1.4. Hipótesis.	4
II. ANTECEDENTES	5
2.1 Política pública en el sector cafetalero mexicano.	5
2.2 Morfología del cafeto.	6
2.3 Importancia agroecológica del Café.	6
2.4 Ventajas ambientales del cafetal.	8
2.5 Calidad de Café.	9
2.6 Comportamiento de las nuevas variedades de café en Chiapas.	10
2.6.1 Variedad Sarchimor.	10
2.6.2 Variedad Marsellesa.	11
2.6.3 Variedad Geisha.	11
2.6.4 Variedad Costa Rica 95.	11
2.7 Importancia de la microbiota en el suelo.	11
2.7.1 Biofertilizantes.	12
2.7.2 Microorganismos y la estimulación en plantas.	14
2.8. Hongos micorrízicos en el cafeto.	15
2.8.1 <i>Rizhopagus intraradices</i> (Schenck & G.S. Sm.) C. Walker & A. Schüßler.	15
2.9. Bacterias Fijadoras de nitrógeno	15
2.9.1. <i>Azospirillum brasilense</i> (Tarrand, Krieg et Döbereiner).	16
III. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1 Localización del área experimental Fase I (Germinación de semillas)	18
3.1.1 Origen de las semillas.	19
3.1.2 Microorganismos.	19
3.1.3 Biofertilización de semillas.	19
3.2.1 Establecimiento de plantas.	22
3.2.2 Tratamientos, Número de repeticiones y Diseño Experimental.	22
3.2.3 Riegos.	23

3.2.4 Manejo de tejidos vegetales y tinción de raíces.....	23
3.3. Medición de Variables.....	23
3.3.1 Variables Morfológicas.....	23
3.3.2. Variables Fisiológicas.....	24
3.3.2.3. Relación raíz-vástago (R/V).....	24
3.3.2.5. Área foliar específica.....	25
3.3.3 Número de esporas.....	25
3.3.3.2. Número de esporas en suelo.....	25
3.4. Análisis estadístico.....	25
IV. RESULTADOS y DISCUSIÓN.....	26
4.1 Variables morfológicas del rendimiento.....	26
4.1.1. Altura de planta.....	26
4.2.2. Número Hojas.....	28
4.2.1. Área Foliar.....	30
4.2.5. Biomasa total.....	38
4.3.1. Relación vástago/raíz.....	42
4.3.2. Tasa relativa de crecimiento (TRC).....	45
4.4. Número de esporas por g de suelo.....	48
4.4.1. Correlación de biomasa total vs cantidad de esporas por g ⁻¹ de suelo.....	50
VI. LITERATURA CITADA.....	53

Índice de Figuras.

Figura 1. Ubicación del área experimental donde se germinó la semilla de las.....	18
Figura 2. Establecimiento del vivero con las cuatro variedades de Coffea arabica L de acuerdo al tratamiento de biofertilización. 2a Testigo, 2b R. intraradices, 2c A. brasilense, 2d biofertilización doble, 2e vivero.	20
Figura 3. Ubicación del área experimental y Ubicación del Rancho San José, municipio de La Concordia, Chiapas donde se estableció el experimento en macetas	21
Figura 4. Relación vástago/raíz de cuatro variedades de Coffea arabica L. biofertilizadas con R. intraradices y/o A. brasilense a los 168 ddt en vivero.	44
Figura 5. Tasa Relativa de crecimiento de cuatro variedades de café biofertilizadas con hongo endomicorrízico y/o bacteria fijadora de nitrógeno. Los valores son promedios de cuatro repeticiones.....	46
Figura 6. Variedad Geisha, planta biofertilizada con Rhizophagus intraradices (Schenck & Sm.) y el testigo en la variedad Geisha a los 140 ddt	54

Summary

The present work was carried out with the objective of identifying the influence of biofertilizing *Rhizophagus intraradices* and/or *Azospirillum brasilense*, on the growth of four varieties of *Coffea arabica* L. in the nursery stage. For this purpose, the Marsellesa, Geisha, Sarchimor and Costa Rica 95 varieties were established in the Rancho San José coffee nursery located in the municipality of La Concordia, Chiapas. The place has an altitude of 1400 m and a semi-warm humid and temperate humid climate A(C). Five replicates of each variety were established with pots sufficient for destructive sampling every 28 days for six months. They were placed on wooden terraces and distributed in blocks completely at random. Morphological and physiological yield variables were determined every 28 days and with them the parameters Stem/root Ratio and Specific Leaf Area were determined, as well as the spore count in the soil. The results indicate differential response in the interaction between microorganisms and varieties in their growth. It is concluded that, The biofertilization of the four varieties of *C. arabica* L. in the nursery with some of the biofertilized microorganisms individually and in co-inoculation favored the growth and the allocation of dry matter of the morphological and physiological components of the yield in comparison with the control without biofertilization. The most contrasting changes in the allocation of dry matter in the four coffee varieties occur from 56 and 84 after transplantation and the highest and recurrent plant expression occurred with the biofertilization of the two microorganisms. The aerial and root biomass of the *Coffea arabica* L. varieties express a differential response in interaction with the microorganisms alone or in coinoculation. The growth parameters in the four varieties in interaction with microorganisms in the root system as well as in the area of the plant.

Resumen

El presente trabajo fue realizado con el objetivo de Identificar la influencia de biofertilizar *Rhizophagus intraradices* y/o *Azospirillum brasilense*, en el crecimiento de cuatro variedades de *Coffea arabica* L. en etapa de vivero. Para tal fin, se establecieron las variedades Marsellesa, Geisha, Sarchimor y Costa Rica 95 en el vivero de café del Rancho San José ubicado en el municipio de La Concordia, Chiapas. El lugar tiene 1400 m de altitud y clima semi-cálido húmedo y templado húmedo A(C). Se establecieron cinco repeticiones de cada variedad con macetas suficientes para realizar muestreo destructivo cada 28 días durante seis meses. Las mismas fueron situadas en bancales de madera y distribuidas en bloques completamente al azar. Se determinaron variables morfológicas y fisiológicas del rendimiento cada 28 días y con los mismos se determinaron los parámetros Relación Vástago/raíz y Área foliar Específica, además el conteo de esporas en el suelo. Los resultados indican respuesta diferencial en la interacción entre los microorganismos y las variedades en su crecimiento. Se concluye que, La biofertilización de las cuatro variedades de *C. arabica* L. en vivero con alguno de los microorganismos biofertilizados individualmente y en co-inoculación favoreció el crecimiento y la asignación de materia seca de los componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento en comparación con el testigo sin biofertilizar. Los cambios más contrastantes en la asignación de materia seca en las cuatro variedades de café se presentan a partir de los 56 y 84 después del trasplante y la expresión vegetal más alta y recurrente se presentó con la biofertilización de los dos microorganismos. La biomasa aérea y radical de las variedades de *Coffea arabica* L. expresan respuesta diferencial en interacción con los microorganismos solos o en coinoculación. Los parámetros de crecimiento en las cuatro variedades en interacción con los microorganismos en el sistema radical como en la parte área de la planta.

I. INTRODUCCIÓN.

Los principales países productores de *Coffea arabica* L. a nivel mundial son Brasil, Vietnam, Colombia, Honduras, India y Uganda y las exportaciones en 2020 fueron de 10.43 millones de sacos (631,800 toneladas), y este volumen incrementó 0.9% en comparación con las exportaciones de diciembre de 2019 y en el mundo, tiene un consumo per cápita de 1.3 Kg. (OIC, 2020).

En México, *Coffea arabica* L. es un cultivo estratégico, por su impacto social y económico, al emplear más de 500,000 productores en el proceso de producción en campo en 14 entidades federativas y 480 municipios (SADER, 2019).

La mayor extensión establecida se encuentra en la región Sur sureste de México con la siguiente superficie por estado: Chiapas (257,743.77 Ha), Veracruz, (143,801.57 Ha), Oaxaca (136,196.93 Ha) , Puebla (69,222.65 Ha), Guerrero (45,603.61 Ha), Hidalgo (23,084.50 Ha), San Luis Potosí (16,201.50 Ha), Nayarit (16,197.09 Ha), Jalisco (3,486.80 Ha), Colima (2,693.25 Ha), México (545.51Ha), Tabasco (257.5 Ha), Querétaro (199 Ha) y Morelos (26.95 Ha) (FIRA, 2019).

En el caso de Chiapas, el cultivo se encuentra en diversas regiones agroecológicas y predomina *Coffea arabica* L. y *C. canephora* (Pierre) ex Froehner. En el Soconusco se tienen 111,000 hectáreas y representa casi el 50% de la superficie del estado, el resto se encuentra en las regiones Frailesca, Selva y Zona Altos (SIAP, 2020).

Actualmente, la cultura del café se desarrolla en 88, de los 125 municipios de Chiapas, es decir, en el 70.4% de los municipios. La mayoría de estos productores tienen superficies que oscilan entre 1 a 5 ha, y son denominados pequeños productores (Escalante, 2018).

1.2. Planteamiento del Problema.

El incremento en la demanda del consumo de *Coffea arabica* L. ha generado la necesidad de introducir nuevos recursos genéticos a México desarrollados en otras regiones cafetaleras del mundo. En este sentido, se introduce la semilla, que ha sido distribuida en diversas regiones, pero no se considera la introducción de su microbiota asociada a las regiones donde se han generado las variedades. Lo anterior es fundamental en el crecimiento de las plantas, al considerar, que los microorganismos en la rizosfera han evolucionado de manera concomitante con las plantas; esta interacción provoca de manera positiva o negativamente la biodisponibilidad de nutrientes (Dabrowska y Zdziechowska 2015), a su vez disminuye los efectos de ciertos patógenos radicales de los cultivos (Camarena-González, 2012).

En la actualidad, la crisis energética ha afectado la disponibilidad de fertilizantes químicos sintéticos para la agricultura e incrementado su costo, además de ser fuentes contaminantes en suelos y agua. Lo anterior ha generado la necesidad de regresar a los esquemas biológicos para nutrir a las plantas de interés mediante procesos naturales y sin contaminación, ni costos elevados, como son los biofertilizantes microbianos. Esta alternativa agroecológica se ha realizado en México a partir de 1999 en diversos cultivos, con énfasis en los de ciclo anual (Aguirre-Medina 2006), este mismo autor argumenta que se ha demostrado la importancia de introducir los microorganismos al sistema radical de las plantas. Sin embargo, su efectividad depende de la composición del biofertilizante y de su compatibilidad con el hospedero (Van der Heijden y Sanders, 2002; Trejo et al., 2011). Estos procedimientos de nutrición y protección de las plantas tienen enfoque agroecológico que permiten disminuir la utilización de fertilizantes químicos sintéticos sin detrimento del rendimiento.

1.3 Justificación.

El cultivo del café (*Coffea arabica* L.) fue introducido a Chiapas desde mediados del siglo XIX, por lo tanto, se ha convertido en un cultivo importante, social y económicamente, al generar divisas para las regiones productoras del trópico. Hoy la caficultura, además, ha contribuido a la preservación de la biodiversidad vegetal mediante su cultivo bajo árboles

de sombra en sistemas agroforestales, (Maffi, 2014; Toledo *et al.*, 2012) en pendientes escarpadas, de donde son desarrolladas por pequeños productores (Barrera y Parra, 2000).

En la actualidad, los pronósticos relativos al cambio climático, citan aumento de temperaturas medias, y se esperan cambios en la producción en las regiones destinadas a la cafecultura, las cuales, en casos extremos pueden desaparecer o surgir nuevas áreas (Läderach, 2010).

Por lo anterior, el gobierno federal, estatal, municipal, los sectores privados y las instituciones de enseñanza superior e Investigación, buscan alternativas para inducir mejor adaptabilidad de los cultivos ante el cambio climático, y a su vez, una mejor resiliencia ante los fenómenos naturales (PND, 2019-2024). Así mismo en entrevistas directas realizadas con productores de café, plantean realizar investigaciones que coadyuven a mejorar el sistema agroforestal, para tener mejor economía familiar.

Los microorganismos del suelo han interactuado con las plantas en el mantenimiento y balance ecológico del suelo. Su relación es obligada con todas las plantas, debido a que, establecen algún tipo de relación con la diversidad de microbiota en la rizosfera que fortalece su persistencia en los diversos agroecosistemas, aun cuando se registran efectos climáticos que afectan su capacidad de producción.

Con estos antecedentes, el presente trabajo de investigación consistió en conocer el comportamiento y crecimiento de cuatro variedades de *Coffea arabica* L. biofertilizadas con dos microorganismos en su fase de vivero, con la finalidad de que puedan ser utilizadas en la renovación de los cafetales, para contribuir al desarrollo de una agricultura sustentable para los productores de café en el Sureste Mexicano.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Identificar la influencia de biofertilizar *Rhizophagus intraradices* y/o *Azospirillum brasilense*, en el crecimiento de cuatro variedades de *Coffea arabica* L. en condiciones de vivero.

1.3.2 Objetivos específicos.

- I. Conocer el crecimiento y la asignación de materia seca en los componentes del rendimiento de las variedades de café marsellesa, sarchimor, geisha y Costa Rica 95 biofertilizadas con *Rhizophagus intraradices* y/o *Azospirillum brasilense* en vivero.
- II. La colonización micorrízica más alta, sola o asociada a la bacteria fijadora de nitrógeno induce mayor crecimiento de las variedades de café.

1.4. Hipótesis.

- H₁: Existe respuesta diferencial en el crecimiento de las cuatro variedades de café cuando se inoculan con *Rhizophagus intraradices* Schenk et Smith y *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Doberneir, solas o combinadas y la mayor expresión en el crecimiento es con la coinoculación de ambos microorganismos.
- H₂: La mayor colonización micorrízica de las variedades de café biofertilizadas con *R. intraradices* sola o en coinoculación con *A. brasilense* está relacionada con mayor crecimiento.

II. ANTECEDENTES

2.1 Política pública en el sector cafetalero mexicano.

A partir del informe realizado por el grupo de trabajo de las Naciones Unidas para la Agenda Post-Desarrollo 2015, los enfoques sostenibles han iniciado una nueva cultura en la sociedad agropecuaria. Este informe presenta diversas recomendaciones, dentro de ellas destaca:

“la visión de desarrollo para el futuro debe estar centrada en los principios de derechos humanos, equidad y sostenibilidad” (ONU, 2012).

Siendo la sostenibilidad, uno de los ejes de los objetivos del milenio, es de suma importancia que los actores involucrados con el sector cafetalero, como son, productores, investigadores, comercializadores, consumidores, economistas, gobierno en sus tres niveles: federal, estatal y municipal, entre otros, orienten los trabajos de investigación e innovación hacia este eje.

Así mismo, la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo Sostenible (Río+20), realizada en Río de Janeiro en el año 2012, se enfocó en dos temas principales: 1) la economía verde en el contexto del desarrollo sostenible y 2) la erradicación de la pobreza en el marco institucional para el desarrollo sostenible (ONU, 2012).

Hoy en día México, cuenta con el Plan Nacional de Desarrollo 2019-2024 elaborado por la Presidencia de la República, que contempla dentro del Eje Transversal 3: Territorio y Desarrollo Sostenible, cinco criterios dentro de los cuales se constituye la implementación de políticas públicas o normativas agropecuarias, para una participación justa del aprovechamiento de los recursos naturales; misma que deberá contemplar la vulnerabilidad ante el cambio climático; favorecer el uso de tecnologías bajas en carbono y fuentes de generación de energías renovables, reducción de contaminantes a la atmósfera, suelo y agua, así como el aprovechamiento de los recursos naturales (DOF, 2019).

Partiendo de la política actual y de las diversas problemáticas que se presentan en el sector agropecuario, especialmente en el sistema producto café, se tomó la decisión de realizar un trabajo de investigación que lleva el propósito de la disminución de insumos externos (fertilizantes químicos sintéticos), con ello minimizar el impacto ambiental.

A lo largo del país se realizan diversos estudios del comportamiento de las variedades de café; sin embargo, en el estado de Chiapas, día a día se incluyen nuevas variedades originarias del cruce de catimores, por lo que, es necesario continuar con la investigación de las mismas.

2.2 Morfología del cafeto.

El café, es un arbusto, con flores blancas y no dependientes de la polinización de terceras especies, el ovario se convierte en un carozo ovalado, éste se constituye por dos semillas dentro de la drupa, de forma elípsoidal y abarcan de 8 a 12.5 mm de largo (Duke, 1983); necesita de 6 a 8 meses para completar su maduración. Cuenta con un tallo leñoso erecto, su una longitud es acuerdo al clima, la intensidad lumínica y al suelo en el que se desarrolle (Carvajal 1972).

Sus raíces, son pivotantes, axiliares y de sostén, laterales y raicillas; desempeñan función de anclaje y exploración de suelo, obtiene agua y nutrientes de origen mineral y algunos de origen orgánico, almacena almidón y azúcares solubles.

La aparición de la radícula, se produce entre el día cinco y seis de la siembra en condiciones óptimas (30°C y oscuridad), y el 50% de las semillas, ya muestra la radícula a partir del día 10 y partir del día 15, la mayoría de las semillas han completado la germinación. La emergencia se produce entre los 50 y los 60 días post-siembra (González 2007).

2.3 Importancia agroecológica del Café.

El café, se coloca entre los cultivos más amigables con el ambiente, especialmente los producidos bajo el esquema orgánico, ecológico, y café de especialidad, además de participar en el comercio justo. El éxito del café orgánico en México se debe a diversos

factores; entre ellos, la riqueza natural que permite producir alimentos sin impacto desfavorable para el ambiente, permitiendo la captura de carbono, estabilizando suelos y permitiendo la conservación de biodiversidad; sin embargo, este sector enfrenta diversos problemas que requieren diversos apoyos científicos y técnicos. (CEDRSSA, 2018).

A pesar las ventajas ambientales que se tienen en el sistema productivo café, aún se tienen diversas problemáticas con respecto a la vulnerabilidad con la que se enfrenta el cambio climático; por ejemplo, el aumento de la temperatura provoca el incremento de algunas plagas, las lluvias son irregulares, los vientos son más fuertes y con esto más huracanes.

En el café, aumento de la temperatura incita que las plantas se estresen más y crezcan menos, presentando una disminución de calidad, mientras que el suelo se seca más rápido; así mismo, promueve el aborto en las flores, fomenta la erosión, y aumentan las plagas y los agentes causantes de enfermedades como la Roya (*Hemileia Vastratrix* Berk & Br.) (Decamps, 2017).

Respecto al manejo cultural de las plantaciones de café, a la fecha continúan existiendo abandonos en las parcelas; por ejemplo, el ochenta y nueve por ciento de los cafecultores que viven en la región frailesca no cumplen con un manejo apropiado de la sombra, conservan un descontrol en la fertilización, y se cuentan con plantaciones de café en edades decadentes, aunado a esta situación, estos conservan en sus parcelas con variedades susceptibles a la roya del café (*Hemileia vastatrix*) (Medina *et al*, 2016).

Anteriormente, se ha hablado de los diversos tipos de producción de café, entre ellos, café orgánico, ecológico, comercio justo, mientras que otros tipos de café, también pueden contribuir positivamente para el desarrollo sostenible, estos tres tipos de producción del café poseen cualidades intrínsecas que satisfacen más de cerca el equilibrio, social, ambiental y económico, necesario para sustentabilidad; sin embargo, estos tipos de producción de café no siempre garantizan sostenibilidad, y por consiguiente no son el único camino para el cultivo del café sustentabilidad (Giovannuci y Koekoek, 2003).

Es importante, los caracteres genéticos de la planta de café que expresarán en su dependencia de los ambientes en que se desarrollan, y al manejo que se otorgue en los dos años de producción comercial; es decir, en primeros años de establecimiento (Blanco *et al*, 2003).

En el estado de Chiapas, las plantas de café se producen de forma convencional en los viveros de café utilizando fertilizantes químicos, sin embargo, necesitamos eco intensificar las plantaciones recurriendo a alternativas de nutrición como son las plántulas provenientes de biofertilizantes.

2.4 Ventajas ambientales del cafetal.

En el sistema productivo café, existe una diversidad de ambientes conformados de manera natural o artificial, en ellos podemos obtener diferentes microclimas y diferentes estratos vegetales.

Los sistemas agroforestales en donde el cultivo de café se tiene como base, se captura en promedio 110 t C/Ha (carbono total por hectárea), en estos sistemas, los patrones de crecimiento dependen de la variedad utilizada. Es frecuente encontrar de tres a nueve ramificaciones, aspecto que influye en los valores que generan los modelos de estimación de la (Espinosa *et al*, 2012).

El café puede verse como un sistema de producción, que tiene como fundamento la conservación y mejoramiento de la fertilidad del suelo, con técnicas e insumos compatibles con el medio ambiente y la conservación de la biodiversidad vegetal y animal.

De acuerdo con mencionado con Farfán (2012), en el sistema de cultivo del café, el arbolado empleado para proteger el café debe contar con las siguientes características:

- A. Pertenecer a la familia de las leguminosas
- B. Adaptarse a los climas de las regiones del cultivo del café;
- C. Poseer crecimiento rápido y vida larga
- D. Tener ramificación abundante y buena altura;
- E. Su follaje debía ser de tal forma que no impidiera la radiación;

- F. Tener con raíces profundas;
- G. Su biomasa leñosa debe ser resistente a vientos; y
- H. Ser inmune a plagas que pudieran atacar el cafeto. (Farfán y Valencia, 2014).

2.5 Calidad de Café.

La Inocuidad, se define como la propiedad de los alimentos de que al ser consumidos no causan daño a nuestro organismo; es decir, que durante el proceso de producción se aplicaron medidas de higiene para reducir el riesgo de que los alimentos no se contaminen con: residuos químicos, metales pesados y agentes físicos que puedan causar una lesión al momento de ingerir un alimento.

Derivado de lo anterior, se generan varios cuestionamientos importantes, por ejemplo: ¿Realmente la agricultura orgánica no nos garantiza una agricultura sustentable?, ¿Los productos orgánicos son realmente inocuos para el consumidor final?, ¿Qué garantías existen para los productores que el comercio justo realmente satisfaga las necesidades mínimas para un desarrollo social en las zonas productoras de café?, ¿Cuáles son las posturas políticas normativas en el país? y ¿Hasta donde se tiene impacto en las normas fitosanitarias, que han sido desde hace varios años publicadas sin tener modificaciones?, a pesar de que existen instancias regulatorias en materia de metrología y normalización de procesos, desde la siembra de la semilla de café hasta el proceso de postproducción, ¿Se asegura la calidad e inocuidad del producto?

Si bien la primera etapa de vida de la planta de café es de suma importancia para su resistencia y adaptabilidad en campo, se deben tener los cuidados necesarios para lograr una planta de calidad y con características que le permitan desarrollarse.

(SAGARPA, 2013), señala que la producción de plantas de café en vivero puede ser tres formas: 1) directamente en el suelo, 2) bolsas o 3) en tubos, siendo el de bolsa el más utilizado y en las cuales se deben tomar ciertas consideraciones para obtener una planta de calidad, que son las siguientes:

- a. Para el trasplante se utilizan bolsas de polietileno negro de calibre 15 x 25 cm.

- b. El suelo debe tener textura franca y buena fertilidad.
- c. Llenar las bolsas a $\frac{3}{4}$ con suelo y rellenar al “tope” con abono orgánico.
- d. Hileras dobles y formar “camas” agrupando 3 hileras dobles, con 10 cm de separación entre éstas. Cada hilera doble ocupa 20 cm de ancho aproximadamente.
- e. Los siguientes grupos de hileras dobles estarán separados por calles de 60 cm, para permitir el paso de los trabajadores y facilitar el manejo del vivero.
- f. Un vivero de 6 x 20 tiene una capacidad de 5000 plantas aproximadamente.

Respecto a la fertilización en vivero, se han utilizado diversas dosis tanto química sintética como orgánica y elegir una de ellas deberá realizarse de forma cuidadosa y evaluando las condiciones tanto económicas, sociales y ambientales en las que se desarrolla el cultivo.

2.6 Comportamiento de las nuevas variedades de café en Chiapas.

Son muchos los factores que determinan el uso de variedades de café en un territorio: la susceptibilidad a plagas y enfermedades, los costos de producción, las necesidades agronómicas, el rendimiento, la resiliencia ambiental, la calidad en taza, el precio de comercialización, entre otros.

A partir de la creación del Programa Integral de Atención al Café en el año 2018, se distribuyeron plantas a productores de café a lo largo del país, especialmente en el sur sureste del país, dentro de las que destacan (SAGARPA, 2018):

2.6.1 Variedad Sarchimor.

Esta variedad proviene de un cruce entre dos variedades: Villa Sarchi (de la familia del café bourbon), y el híbrido de Timor. Se le llamó Villa Sarchi porque fue extraída de cafetales ubicados en la localidad de Villa Sarchí, en Costa Rica) (OIC, 2020).

2.6.2 Variedad Marsellesa.

Esta planta es el resultado del cruce entre timor híbrido 832/2 y Villa Sarchí CIFC 971/10. Seleccionado por ECOM-CIRAD en Nicaragua, (Sarchimor). Es de porte alto, adaptada a altitudes medias que oscilan entre 5°N to 5°S: 1000–1600m ; 5–15°N and 5–15°S: 700–1300m >15°N and >15°S: 400–1000m, con acidez en la taza, color de brote verdes, tamaño del fruto promedio, y 3 años para la primer cosecha. (OIC, 2020).

2.6.3 Variedad Geisha.

A pesar de no ser de reciente creación, el cultivo en México, se intensificó en 2015 con la implementación del Programa PIAC, (SAGARPA, 2015). Esta variedad se recolectó originalmente de los bosques de café en Etiopía en la década de 1930; desde allí, se envió a la estación de investigación Lyamungu en Tanzania, y luego se llevó al Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) en América Central en 1953.

Tiene una calidad correcta a gran altura. El término "geisha" se suele aplicar a otras variedades que no comparten la misma genética de Geisha de Panamá; se tarda 3 años para la primera cosecha. (OIC, 2020).

2.6.4 Variedad Costa Rica 95.

Variedad de muy alto rendimiento, adaptada para las zonas cálidas y suelos ácidos. Tiene un periodo de crecimiento de 3 años antes de la primer cosecha cruce entre Híbrido de Timor 832/1 con Caturra. Selección Pedigree (selección de plantas individuales a través de generaciones sucesivas) realizada por el Instituto del Café de Costa Rica (ICAFFE). A pesar de tener un alto rendimiento se ha demostrado su susceptibilidad a Roya del Cafeto. Se siembra a una densidad de 3000/4000 plantas por Ha. (OIC, 2020).

2.7 Importancia de la microbiota en el suelo.

Los microorganismos del suelo, contribuyen a la sustentabilidad de todos los ecosistemas por ser los principales agentes del ciclado de los nutrientes, al regular la dinámica de la materia orgánica del suelo, el secuestro de carbono, la emisión de gases de efecto

invernadero, la estructuración del suelo y la retención de agua, del aumento en la eficiencia de adquisición de nutrientes por las plantas y del mantenimiento de la salud vegetal (Correa, 2013).

2.7.1 Biofertilizantes.

Los biofertilizantes, están constituidos por microorganismos vivos; los cuales al ser aplicados, colonizan la rizósfera o el interior de la planta y promueven el crecimiento o la disponibilidad de nutrientes (Vessey, 2006). Estos viven normalmente en poblaciones bajas en el suelo, pero al incrementarse por medio de inoculación artificial, tienen la capacidad de poner a disposición de las plantas, elementos nutritivos mediante su actividad biológica (Huerta *et al* (2008).

La alianza productividad-sostenibilidad, cumple propósitos totalmente divergentes que están siendo exigidos en consecuencia del aumento poblacional, cambios climáticos, y comportamiento de los consumidores (Domingues, *et al*, 2020).

Las iniciativas de restauración ecológica, que incluyen técnicas de revegetalización, son procesos complejos que pueden ser alterados debido a factores bióticos y abióticos; dentro de estas los microorganismos juegan un rol elemental en la introducción de especies vegetales en áreas a restaurar (Beltrán, Bernal y Pita, 2016).

En ese sentido, la revegetalización se añade como parte de los procesos de restauración y se define como el fenómeno por el cual las plantas colonizan un área de la cual ha sido removida su cobertura vegetal original, por efecto de un disturbio (Bashan, y otros, 2016).

Otra técnica sustentable, es la biorremediación que es el uso de microorganismos naturales y recombinantes, para la limpieza de elementos tóxicos ambientales. (Mosa, *et al*, 2016).

Por su parte, la diversidad fitoquímica y el largo tiempo de evolución de este metabolismo han resultado en interacciones de complejidad creciente (Vivanco, *et al*, 2005).

Diversos autores, han comprobado científicamente que los usos de microorganismos ayudan a realizar más fácilmente la asimilación de nutrimentos, por ejemplo: el fósforo

(P) que es uno de los nutrientes más necesarios y, a su vez, más deficitarios (Patiño y Sanclemente, 2014). Casi el 98% de los suelos tienen un uso inadecuado de este elemento (Awasthi, Tewari, y Nayyar, 2011). Los microorganismos solubilizadores de fosfatos como *Kocuria sp.*, *B. Subtilis*, *S. diversispora* y *P. ochrochloron* mejoran la disponibilidad de fósforo en el suelo (Cisneros, Franco, Fernández, y Fuenmayor, 2017).

El hierro (Fe), es otro de los elementos necesarios para los seres vivos, debido a su baja solubilidad, es poco asimilable por las plantas; debido a ello, muchos organismos, que incluyen bacterias, hongos y plantas, producen pequeñas moléculas, péptidos no ribosomales, muchas de ellas, de alta afinidad por el hierro llamadas sideróforos que actúan de manera específica como agentes quelantes para secuestrar hierro en presencia de otros metales y reducirlo a Fe (Aguado *et al*, 2012).

Los hongos micorrízicos forman parte integral del suelo, debido a que pueden crecer a un lado en el interior de la raíz de la planta hospedera, específicamente en el apoplasto de las células corticales y la otra en su exterior, ambas unificadas por un micelio externo que explora gran superficie del suelo (Reyes, 2011).

Por otra parte, existen bacterias que son consideradas como organismos de alta biotecnología, aumentando la capacidad de intercambio catiónico, aportando fijación de nitrógeno en el suelo, entre otras ventajas (Leal, y otros, 2018).

Las bacterias del tipo *Pseudomonas spp.*, pueden ejercer un efecto benéfico a través de las síntesis de hormonas vegetales y de vitaminas (Sanabria y Jiménez, 2011).

La variabilidad de los microorganismos es tan amplia, que se puede aplicar en conjunto con otros cultivos, una forma sostenible de incorporar Nitrógeno (N) como las leguminosas que se emplean como abonos verdes un ejemplo de ellas es la *Canavalia ensiformis*. (Tamayo *et al* 2017).

En el caso de éstas especies, la asociación *Rhizobium*-leguminosa es considerada un proceso de alta eficiencia en fijación biológica del nitrógeno atmosférico pudiendo suministrar hasta 90 % de las necesidades de nitrógeno en dichas plantas (López, Lépiz, y González, 2017).

Las bacterias del género *Rhizobium*, tienen la propiedad de estimular en las raíces de las leguminosas, la formación de estructuras especializadas llamadas nódulos, dentro de las cuales, el N₂ atmosférico, que es muy estable y relativamente inerte, se reduce a iones amonio (NH₄⁺) fácilmente asimilables por la mayoría de las especies vegetales.(Marquina, 2011).

La inoculación de las semillas de frijol común con *Rhizobium*, beneficia el comportamiento de los indicadores morfológicos y productivos evaluados en relación con las que no fueron inoculadas con este biofertilizante (Calero *et al*, 2019).

Se denomina como PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria), a un conjunto de bacterias que habitan en la rizosfera de las plantas y que producen en ellas, todo tipo de beneficios, potencian su crecimiento, mejorando la disponibilidad o la absorción de minerales y otro tipo de compuestos (nitratos, fosfatos, etc.); ayudan a la producción de hormonas necesarias en el desarrollo de los vegetales por ejemplo las fitohormonas y giberelinas (Hu, 2020).

La innovación y el uso de estos microorganismos, no debe implementarse solamente cuando existan impactos negativos en el medio ambiente, (Mateos *et al*, 2015), sino que debe utilizarse como una actividad cotidiana.

2.7.2 Microorganismos y la estimulación en plantas.

En bacterias, el ácido indol acético, (AIA), es un metabolito derivado del aminoácido triptófano, aunque puede ser tomado directamente de la planta, por lo tanto, se conocen diferentes alternativas de síntesis. Para averiguar acerca de los compuestos que intervienen en la formación de AIA en *Azospirillum*, estudios han tratado de obtener mutantes incapaces de sintetizar AIA, sin embargo, en el mejor de los casos solamente se ha logrado obtener mutantes hipoproducidas de este compuesto. Esto sugirió la existencia de más de una vía biosintética del AIA (Herrera, Velásquez, y Hernández, 2020). Las plantas poseen un sistema de defensa que va desde barreras físicas hasta señales moleculares y sistemáticas (Ojito y Portal, 2010).

2.8. Hongos micorrízicos en el cafeto.

La simbiosis micorrízica, es la asociación hongo-planta más antigua y expandida que existe, presente aún en ecosistemas áridos, degradados (Seguel, 2014); es decir, la micorriza es la asociación mutualista entre algunos hongos que habitan el suelo y las raíces de las plantas (Sosa *et al*, 2006).

El sistema radicular del café, asocia diversos microorganismos como son los hongos micorrízicos, esto debido a que el cafeto es un micótrofo obligado y con dependencia micorrízica (Tristao *et al*. 2006, citado por Ibarra, 2014).

Esta asociación planta-hongo, le permite a la planta hospedera explorar mayor volumen de suelo y, en consecuencia, absorber más agua y nutrientes (Ruscitti *et al*, 2012).

Varios estudios han mostrado el impacto positivo de las micorrizas en conferir mayor resistencia a la planta frente a diversos metales tóxicos. (Seguel *et al*, 2013).

2.8.1 *Rizhopagus intraradices* (Schenck & G.S. Sm.) C. Walker & A. Schüßler.

Es un microorganismo del reino fungi, del phylum Glomeromycota ,perteniente a la clase Glomeromycetes, del orden Glomerales y de la familia Glomeraceae , anteriormente conocido como gloumus intraradices por la generación de una sustancia llamada glomalina, capaz de unir partículas de la raíz a través de los exudados de ésta (IUCN, 2022).

2.9. Bacterias Fijadoras de nitrógeno

La rizósfera, comprende el volumen de suelo que se encuentra bajo la influencia de las raíces vegetales. Dicha región presenta una extraordinaria diversidad y actividad microbiana, debido principalmente al alto contenido en nutrientes que proceden de los exudados radiculares (Tino 2008).

En cítricos, la adición de las cepas de bacterias de *Azospirillum* y *Azotobacter* solubilizan de fósforo (P), usando residuos vegetales (cáscara de naranja y cachaza) y estiércol de pollo como acarreadores, estimularon el crecimiento de *Citrus aurantium* bajo

condiciones de vivero. La efectividad de los biofertilizantes integrados con residuos vegetales y estiércol de pollo, se relacionó con su potencial para soportar el crecimiento y supervivencia de bacterias fijadoras de N y solubilizadoras de P, con una subsecuente disponibilidad de Nitrógeno y P en suelo (Rivera, Trujillo y Alejo, 2011).

Así mismo, la producción de plantas en fase de vivero en asociación con microorganismos benéficos. La inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal y la utilización del sustrato a base de composta incrementaron el rendimiento y la calidad nutracéutica de los frutos de tomate producido bajo condiciones de invernadero (Espinosa *et al*, 2017).

El uso de hongos micorrizicos nativos, como inoculante para las diferentes especies forestales son muy eficaces en vivero. (Ramírez, *et al*, 2018). En la especie de arándano andino (*V. meridionale*), la colonización de micorrizas produce que las plantas desarrollen raíces cortas a menos que se les agregue promotores de desarrollo como ácido Indolbutírico o ácido indol-acético en el medio de cultivo. (Bautista *et al*, 2017).

Algunos reportes de peso seco de café, indican que los tratamientos que más influyen en el desarrollo de las plántulas, son los que involucran la inoculación con bacterias *Kocuria* sp. y *B. subtilis*, ya sea en forma individual o en interacción, estas condiciones se vieron favorecidas con la ausencia de roca fosfórica (RF), de lenta solubilidad y adición de pulpa de café descompuesta, lo anterior, comparado con el tratamiento que recibió fertilización química con fosfato diamónico, comúnmente conocido como DAP (Cisneros, Sánchez, y Menjivar, 2017).

La simbiosis entre *R. tropici* y *L. leucocephala*, incrementó el peso seco total hasta en 150 % comparado con las plantas no inoculadas, demostrándose el efecto benéfico de la simbiosis aún ante los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) (López *et al*, 2012).

2.9.1. *Azospirillum brasilense* (Tarrand, Krieg et Döbereiner).

Las bacterias del género *Azospirillum*, son un grupo de bacterias gram negativas, pertenece al orden *Rhodospirillales*, que pueden producir cantidades de limo capsular,

que tiene la facultad de fijar nitrógeno de la atmósfera, debido a que es un microbio aerobio libre (Santana, Colina y Castro, 2017).

Esta bacteria tiene forma de espiral, reconocida por la capacidad de fijar Nitrógeno (N_2) y que poseen una amplia distribución a nivel mundial, bajo condiciones ambientales diferentes.

Algunas plantas, establecen una relación estrecha y persistente con esta bacteria fijadora de nitrógeno. Esta simbiosis, que proporciona beneficios durante la vida en común a ambos simbioses, se realiza en nódulos radiculares, en los cuales el nitrógeno atmosférico se fija y se proporciona a la planta en forma de compuestos orgánicos nitrogenados. *Azospirillum* en combinación con un programa de fertilización en función del análisis de suelo, tienen incidencia sobre el rendimiento del cultivo de café en campo. (Santana, 2017).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del área experimental Fase I (Germinación de semillas)

La primera fase de la presente investigación se estableció en el vivero “El Roble”, localizado con georreferenciación sexagesimal de 16° 40' 40" LN, 93° 15' 54.2" LO, a 880 m de altitud en el Municipio de Ocozocoautla de Espinosa, región Centro, Chiapas, México.



Figura 1. Ubicación del área experimental donde se germinó la semilla de las cuatro variedades de *Coffea arabica* L y el testigo.

3.1.1 Origen de las semillas.

Las semillas de las variedades Marsellesa, Geisha, Sarchimor y Costa Rica-95 se obtuvieron de lotes certificados por el Sistema Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) en el estado de Veracruz y fueron adquiridas en el municipio de Coatepec, Veracruz, propiedad del Ing. Miguel Piña.

3.1.2 Microorganismos.

- Se utilizó el biofertilizante INIFAP^{MR}, a base del hongo endomicorrízico *Rhizophagus intraradices* (Schenk et Sm) Walker et Schuessler, reproducido en suelo estéril. Al momento del envase se tuvieron 40 esporas por gramo de suelo más propágulos y el nivel de colonización en el sistema radical de *Brachiaria decumbens* del 95% (Datos indicados en el producto).
- *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner, fue producido por la empresa Biofabrica siglo XXI en Xochitepec, Morelos con el nombre comercial AzoFer Plus, teniendo una concentración de 500×10^6 bacterias.g⁻¹ (Datos indicados en el producto).

3.1.3 Biofertilización de semillas.

Antes de sembrarse en el semillero, se pesaron 200 g de cada variedad y fueron sumergidas en agua durante 24 hr para inducir el proceso de imbibición. Posteriormente fueron biofertilizadas de acuerdo al tratamiento.

Se utilizaron cuatro tratamientos para cada variedad de café estudiada y el microorganismo correspondiente para cada tratamiento fue adherido con Carboximetilcelulosa (Figura 2 a,b,c,d, e) y se establecieron en el vivero con arena de río lavada como sustrato.



Figura 2. Establecimiento del vivero con las cuatro variedades de *Coffea arabica* L de acuerdo al tratamiento de biofertilización. 2a Testigo, 2b *R. intraradices*, 2c *A. brasilense*, 2d biofertilización doble, 2e vivero.

La segunda fase de la investigación se desarrollo en la Finca "Rancho San Jose", con georeferencia de 15° 46' 39.35" LN 92° 59' 49.51" LO y 1100 msnm y perteneciente al Municipio de La Concordia en la región Frailesca, Chiapas, México.

En "San José" se tiene un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano con 2000 mm de precipitación y temperatura media de 24 °C (INEGI, 2005).

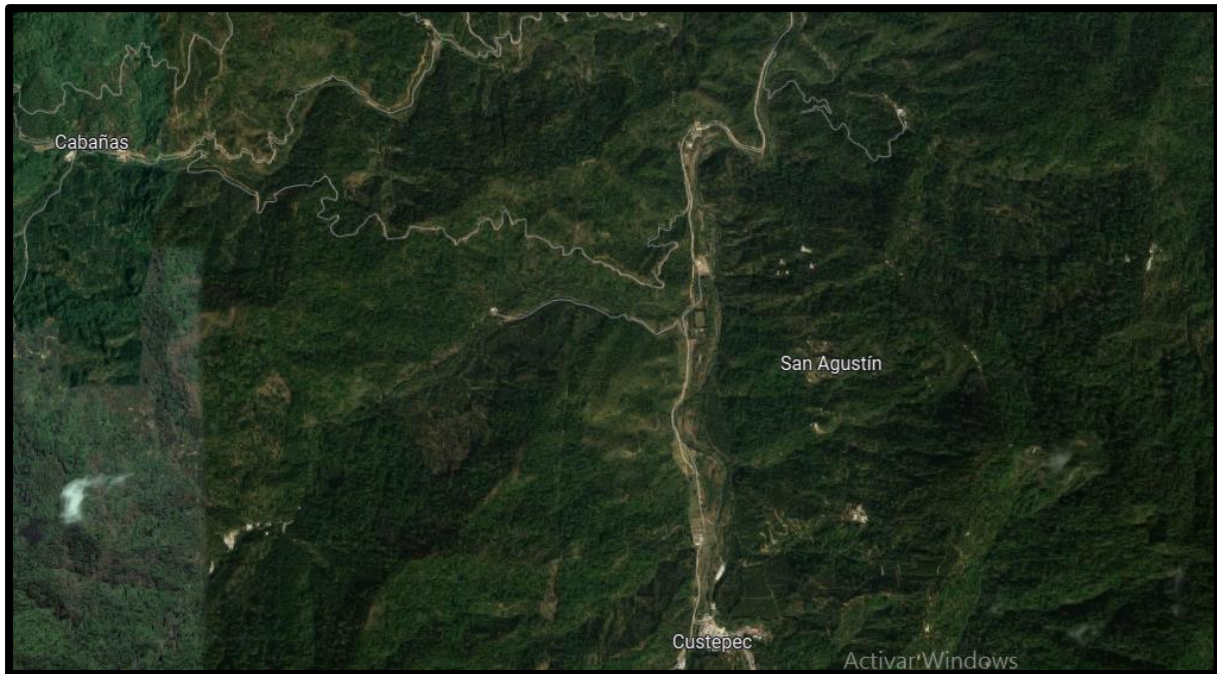


Figura 3. Ubicación del área experimental y Ubicación del Rancho San José, municipio de La Concordia, Chiapas donde se estableció el experimento en macetas

El Suelo pertenece al grupo Fluvisol y el sustrato se elaboró con el suelo más 50 % de arena de río lavada y el mismo fue solarizado por 72 h con las siguientes características físico-químicas (Cuadro 2).

Cuadro 1. Análisis físico-químico* de suelo del Rancho San José, La Concordia, Chiapas.

Concepto	Valor
pH (H ₂ O) rel. 1:2	5.4
CE dS m ⁻¹	0.006
MO %	5.7
N total %	0.24
P Olsen (mg Kg ⁻¹)	27.36
Fe (mg Kg ⁻¹)	26.67
Cu (mg Kg ⁻¹)	1.04

Zn (mg Kg ⁻¹)	1.58
Mn (mg Kg ⁻¹)	8.68
S-SO ₄ (mg Kg ⁻¹)	31.52
Bo (mg Kg ⁻¹)	Menor al límite detección del método.
K (cmol Kg ⁻¹)	54.41
Ca (cmol Kg ⁻¹)	14.90
Mg (cmol Kg ⁻¹)	2.13
Na (cmol Kg ⁻¹)	0.08
CIC (cmol Kg ⁻¹)	16.53

*Análisis realizado en el laboratorio Capaso en H. Cárdenas Tabasco.

El sustrato tiene textura Franca (13 % arcilla, 36 % Limo y 51 % arena). Con el mismo se llenaron las bolsas previa solarización por 72 horas, con la finalidad de minimizar la cantidad de patógenos del mismo

3.2.1 Establecimiento de plantas.

Las plántulas fueron trasplantadas a bolsas plásticas negras calibre 16, de 7 x 15 cm, 48 días posteriores a la siembra, cuando el 90 % presentó hojas cotiledones (fase conocida como mariposa). La segunda biofertilización, se realizó el mismo día del trasplante a bolsa aplicando 2.5 gramos de biofertilizante a cada bolsa, bajo el mismo orden utilizado en la fase de germinación.

3.2.2 Tratamientos, Número de repeticiones y Diseño Experimental.

Se utilizaron cuatro tratamientos por variedad de café estudiada. Testigo (sin biofertilización), biofertilización con *Rizophagus intraradices*, Biofertilización con *Azospirillum brasilense* y biofertilización dual con *Rizophagus intraradices* + *Azospirillum brasilense*. En todos los casos se tuvieron cuatro repeticiones y se distribuyeron en un diseño completamente al azar.

Se establecieron suficientes plantas por cada variedad para realizar un muestreo destructivo cada 28 días, durante seis meses, que fue el momento en que las plantas

alcanzaron tres cruces de hojas verdaderas, que se considera el tamaño ideal para trasplante a campo.

3.2.3 Riegos.

El riego se realizó con agua de las vertientes de la zona. La frecuencia de riegos fue cada 72 hr y de forma manual.

3.2.4 Manejo de tejidos vegetales y tinción de raíces.

El material vegetativo que fue colectado cada 28 días, mantuvo el siguiente proceso: los tejidos en verde fueron lavados con suficiente agua potable para eliminar residuos de suelo, posteriormente, la raíz, hojas y tallo fueron separados, envasados y etiquetados en bolsas de papel estraza en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la UNACH *Campus* IV Huehuetán.

Mediante la técnica de tinción y clareo de Phillips y Hayman (1970) se prepararon 100 segmentos de raíz con longitud de 1.5-1.6 cm de cada muestreo y se observaron al microscopio óptico con objetivo de inmersión (100 X). Los resultados se expresaron en porcentaje de colonización micorrizica.

3.3. Medición de Variables.

En la planta, se registraron las variables morfológicas y fisiológicas del rendimiento, además del porcentaje de colonización micorrízica (Phillips y Hayman, 1970).

3.3.1 Variables Morfológicas.

3.3.1.1. Altura de planta.

Se registró con una regla graduada a partir de la corona radical hasta la yema apical en cm. con un vernier digital de fibra de carbón marca Caliper, resolución 0.1 mm/0.01", precisión de ± 0.2 mm/0.01" y batería SR44/LR44 de 1.55 V.

3.3.1.2. Número de hojas.

Se cuantificó el número de hojas totales por plantas. El número de hojas se registró a partir de los 56 días del trasplante (ddt), toda vez que en el primer muestreo (28 ddt) solamente se presentaron hojas cotiledonales.

3.3.2. Variables Fisiológicas.

La materia seca de la parte aérea y radical, se determinó mediante la deshidratación, de cada componente fisiológico de la planta (raíz, lamina foliar y tallo) y el peso se registró (g) de cada una de los componentes con la ayuda de balanza analítica (Denver instrument Modelo M-310).

3.3.2.1. Área foliar

El área foliar (cm²), se obtuvo con un integrador de área foliar (LI-COR, LI 3000^a, USA).

3.3.2.2. Peso seco de hoja, tallo y raíz

Los componentes fisiológicos del rendimiento de la parte aérea y radical se pesaron en balanza semi analítica (Ohaus Adventurer Pro, USA) después de haberse secado en una estufa de aire forzado a 60-75 °C hasta peso constante.

3.3.2.3. Relación raíz-vástago (R/V)

Se determinó con el peso seco de la parte aérea y el peso seco del sistema radical de acuerdo a Boonstra, citado por Böhm, (1979).

3.3.2.4. Tasa relativa de crecimiento (TRC)

Se determinó con los datos obtenidos de materia seca de acuerdo a lo propuesto por Milthorpe y Moorby (1982) por medio de la siguiente fórmula:

$$(TRC) = (\text{Log}_e W_2 - \text{Log}_e W_1) / (T_2 - T_1)$$

TRC se expresa: g.g⁻¹. día⁻¹

$W_2 - W_1$ y $T_2 - T_1$ son el peso seco del total de la planta en dos fechas de muestreo respectivo. Log_e es el logaritmo natural.

3.3.2.5. Área foliar específica.

Se registró en cm^2 con un integrador de área foliar (LI-COR, LI-3100). El registro se realizó en el primer muestro a los 28 días y en el muestreo final a los 168 días.

Se obtuvo con los resultados de materia seca y el área foliar de acuerdo a Hunt (1982), mediante la siguiente formula:

$$\text{AFE} = \text{Área foliar (cm}^2\text{)} / \text{peso seco de hoja (g)}$$

3.3.3 Número de esporas.

3.3.3.2. Número de esporas en suelo.

Se determinó mediante el método de Tamizado en Húmedo y Decantación propuesto por Gerdemann y Nicholson (1963).

3.4. Análisis estadístico.

En esta investigación, todas las posibles fuentes de variación o de influencia estuvieron controladas y sólo hay efecto del factor en estudio, es este caso la biofertilización. Razón por la cual se eligió el diseño experimental completamente al azar (DCA).

Las medidas descriptivas se calcularon de los datos obtenidos y son valores numéricos calculados a partir de la muestra y que resume la información contenida en ella. Los datos fueron sometidos a un análisis de ANOVA, mediante el paquete estadístico SAS 8.12, y se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia ($p \leq 0.05$).

IV. RESULTADOS y DISCUSIÓN.

4.1 Variables morfológicas del rendimiento.

4.1.1. Altura de planta.

La altura de la planta con los diferentes tratamientos y en las cuatro variedades de *Coffea arabica* L. se presenta en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Altura de planta (cm) de cuatro variedades de *Coffea arabica* L. biofertilizadas con *R. intraradices* y/o *A. brasilense* en vivero

Tiempo (días)	Tratamiento	Marsellesa	Geisha	Sarchimor	Costa Rica 95
28	Testigo	4.7 b	8.02 c	4.7 b	4.8 d
	<i>R. intraradices</i>	6.3 a	9.88 b	6.3 a	8.4 c
	<i>A. brasilense</i>	4.5 b	7.78 c	4.5 b	11.0 a
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	6.2 a	11.56 a	6.2 a	9.8 b
	CV (%)	8.1	8.18	8.1	5.9
56	Testigo	15.3 c	14.16 b	15.3 c	13.9 c
	<i>R. intraradices</i>	21.5 a	20.22 a	21.5 a	21.1 b
	<i>A. brasilense</i>	19.6 b	21.86 a	19.6 b	21.8 b
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	22.4 a	22.60 a	22.4 a	23.5 a
	CV (%)	5.1	7.7	5.1	5.5
84	Testigo	19.8 b	23.30 a	19.8 b	16.9 b
	<i>R. intraradices</i>	21.0 ab	22.22 a	21.0 ab	22.6 a
	<i>A. brasilense</i>	21.5 ab	24.10 a	21.5 ab	22.7 a
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	23.2 a	24.20 a	23.2 a	23.7 a
	CV (%)	6.4	5.9	6.4	6.2
112	Testigo	26.8 c	27.16 b	26.8 c	27.6 c
	<i>R. intraradices</i>	30.3 b	31.70 a	30.3 b	34.6 b
	<i>A. brasilense</i>	32.0 b	32.46 a	32.0 b	35.5 ab
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	36.7 a	32.48 a	36.7 a	36.9 a
	CV (%)	5.1	5.85	5.1	3.2
140	Testigo	26.7 c	33.76 b	26.7 c	28.2 d
	<i>R. intraradices</i>	37.5 b	37.50 a	37.5 b	37.6 b
	<i>A. brasilense</i>	37.2 b	38.56 a	37.2 b	32.0 c

	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	40.8 a	38.00 a	40.8 a	43.8 a
	CV (%)	4.0	4.7	4.0	5.3
168	Testigo	28.4 b	32.8 c	28.4 b	34.4 b
	<i>R. intraradices</i>	39.7 a	37.6 b	39.7 a	41.2 a
	<i>A. brasilense</i>	38.6 a	43.1 a	38.6 a	36.3 b
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	39.9 a	42.4 a	39.9 a	42.7 a
	CV (%)	4.7	6.5	4.7	5.3

Los valores son promedios de cuatro repeticiones \pm el error estándar y las letras que no son iguales en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$).

La altura de las plantas biofertilizadas con los microorganismos, solos o por separado, se incrementó en todas las variedades en relación al testigo sin biofertilizar.

Este efecto se presentó desde el primer muestreo, a los 28 días después del trasplante (dds) y fue consistente este comportamiento a los 56, 84, 112, 140 y 168 dds.

Entre los microorganismos, el efecto inicial se presentó en las plantas biofertilizadas con *A. brasilense* en las variedades Marsellesa, Sarchimor y Costa Rica 95, y en Geisha lo fue la coinoculación de los dos microorganismos..

En relación con los microorganismos, el incremento de altura fue con la coinoculación de los dos microorganismos, también se presentó en Marsellesa, Geisha y Sarchimor con diferencia estadística ($p \leq 0.05$).

En el siguiente muestreo, a los 56 ddt el mayor incremento en altura se expresó con *R. intraradices* en Marsellesa, Geisha y Sarchimor y en Costa Rica 95 con la coinoculación de los dos microorganismos. En este mismos muestreo la coinoculación de las cuatro variedades estuvo incluida en el mismo grupo estadístico que las plantas biofertilizadas con *R. intraradices*.

A los 84 ddt el mayor incremento en altura se presentó en todas las variedades con la coinoculación de los dos microorganismos y el mismo continuó hasta los 168 ddt.

El incremento en la altura de las plantas de manera diferencial, entre variedades, tiempo de la biofertilización y los microorganismos, expresan el beneficio de la asimilación de nutrientes, mismos que se expresan en el crecimiento de la planta.

Resultados similares se han encontrado mediante la inoculación de diversos microorganismos simbióticos en café árabe var. Oro azteca (Aguirre –Medina et al., 2011) y Var. Bourbon (Adriano–Anaya et al., 2011). Los microorganismos, como los hongos endomicorrízicos favorecen el desarrollo de las plantas mediante el incremento en el área de exploración del sistema radical y mayor abastecimiento de nutriente y agua (Aguirre – Medina et al., 2005). *Azospirillum brasilense* contribuye al desarrollo de las plantas mediante la fijación de nitrógeno, produciendo fitohormonas y sideroforos, solubilizando el fósforo y promoviendo la síntesis de enzimas que modifican los niveles de fitohormonas (Loredo–Osti et al., 2004). Es una bacteria que al asociarse a las raíces de las plantas ha demostrado incrementar el desarrollo radical (Aguirre-Medina et al., 2011; Camelo et al., 2011) y de esta manera, mejora la absorción de nutrientes para las plantas, favoreciendo el crecimiento de la plantas huésped, en nuestro caso favoreciendo a la altura de la planta de café robusta (Ibarra-Puón, 2014).

En diversos cultivos perennes se ha demostrado este beneficio, como cedro (*Cedrela odorata* L.) (Mina–Briones, 2013), primavera (*Roseodendron donnell-smithii*) (Ruiz–Noriega, 2013) y otros frutales (Salamanca y Cano, 2005) se ha documentado este efecto.

Aguirre-Cadena et al. (2021) cita mayor crecimiento a los cuarenta y cinco días posteriores a la siembra en clones de banano, con el hongo *R. intraradices*, en mayor altura de plantas.

4.2.2. Número Hojas.

El número de hojas de las variedades de café estudiadas mediante la interacción de dos microorganismos solos o asociados, se puede observar en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Número de hojas de cuatro variedades de *Coffea arabica* L. biofertilizadas con *R. intraradices* y/o *A. brasilense* a los 168 ddt en vivero.

Tiempo (días)	Tratamiento	Marsellesa	Geisha	Sarchimor	Costa Rica 95
56	Testigo	2.8 b	3.0 b	2.4 b	3.4 a
	<i>R. intraradices</i>	3.2 b	3.0 ab	3.4 a	3.4 a
	<i>A. brasilense</i>	4.0 a	4.0 a	3.8 a	4.0 a
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	3.4 ab	3.6 ab	3.8 a	3.8 a
	CV (%)	12.4	14.9	14.9	18.3
84	Testigo	4.5 a	5.2 a	5.2 b	4.2 b
	<i>R. intraradices</i>	6.0 a	5.4 a	6.0 a	5.8 a
	<i>A. brasilense</i>	6.0 a	5.6 a	6.0 a	6.0 a
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	6.0 a	5.6 a	6.0 a	6.4 a
	CV (%)	4.4	11.6	4.0	9.7
112	Testigo	5.2 b	7.2 a	5.2 b	4.4 b
	<i>R. intraradices</i>	7.5 a	7.2 a	4.6 b	7.4 a
	<i>A. brasilense</i>	6.0 ab	8.0 a	5.2 b	6.6 a
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	7.5 a	5.0 b	8.0 a	7.0 a
	CV (%)	9.3	6.0	12.8	10.8
140	Testigo	5.0 c	6.2 b	6.4 b	7.4 b
	<i>R. intraradices</i>	9.5 a	8.0 a	7.0 b	9.0 a
	<i>A. brasilense</i>	8.7 ab	8.2 a	8.0 a	7.6 b
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	8.5 b	7.0 ab	7.2 ab	8.0 ab
	CV (%)	5.2	10.5	6.9	9.5
168	Testigo	6.25 b	6.4 b	7.6 a	7.8 b
	<i>R. intraradices</i>	9.5 a	8.2 a	7.4 a	9.6 ab
	<i>A. brasilense</i>	7.7 ab	8.0 a	8.0 a	8.0 b
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	8.2 a	8.4 a	7.4 a	10.2 a
	CV (%)	6.0	7.3	6.2	13.4

Los valores son promedios de cuatro repeticiones \pm el error estándar y las letras que no son iguales en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$).

La respuesta del número de hojas en las variedades de café en interacción con los microorganismos, se presenta de manera consistente a partir de los 56 ddt. En las cuatro variedades, fueron estadísticamente diferentes al testigo ($p \leq 0.05$). *R. intraradices* indujo

valores similares a la simbiosis doble y *A. brasilense* en Sarchimor, Costa Rica 95 y geisha, pero no en Marsellesa.

A los 84 ddt todas las variedades incrementaron su número de hojas, incluyéndolos testigos en Marsellesa y Geisha.

A los 112 ddt en la variedad Geisha, Marsellesa y Costa Rica 95, se incrementó el número de hojas con la biofertilización por separado de los microorganismos. En el caso de Marsellesa, lo fue con *R. intraradices* y la coinoculación de los dos microorganismos. En Sarchimor el efecto se presentó en mayor número de hojas también con la coinoculación de los microorganismos y Costa Rica 95 indujo más hojas cuando se aplicaron los biofertilizantes, solos o en conjunto.

El efecto de mayor número de hojas cuando se aplicaron los microorganismos a las variedades en comparación con el testigo, se considera que se debe a un efecto concomitante entre el aumento en la capacidad de absorción y el transporte del sistema radical, inducido por los microorganismos hacia la planta y la expresión de la planta huésped. *A. brasilense* tiene la capacidad para inducir mayor crecimiento radical en la planta huésped que le permite, además del anclaje, mayor eficiencia en el aprovechamiento de los nutrientes y el agua (Okon et al. 1988) y *R. intraradices* al extender el crecimiento externo del micelio actúa como una extensión de la superficie de absorción de la raíz (Mosse 1973), que se reflejan en su leve incremento en el número de hojas. Resultados similares en incremento del número de hojas en *Coffea arabica* L. var. Oro Azteca citan Aguirre-Medina et al. (2011) con los mismos microorganismos.

4.2. Variables fisiológicas del rendimiento

4.2.1. Área Foliar

El área foliar de las cuatro variedades de *Coffea arabica* L. biofertilizada con dos microorganismos se anotan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Área foliar (cm²) de cuatro variedades de *Coffea arabica* L en interacción con hongo endomicorrízico y bacteria fijadora de nitrógeno en vivero a los 168 ddt,

Variedad	Control	<i>R intraradices</i>	<i>A. brasilense</i>	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	CV (%)
Marsellesa	69.2 ± 0.7 c	288.0 ± 17.4ab	244.5 ± 5.7 b	295.8 ± 10.0 a	9.4
Geisha	70.9 ± 0.2 c	245.5 ± 0.2 a	201.4 ± 0.5 b	258.0 ± 0.6 a	6.8
Sarchimor	107.5 ± 3.0b	251.0 ± 7.2 a	243.8 ± 5.4 a	259.4 ± 12.7 a	9.4
Costa Rica 95	154.8 ± 5.0d	339.4 ± 20.1 b	244.8 ± 2.9 c	390.1 ± 9.9 a	8.2

Los valores son promedios de cuatro repeticiones ± error estándar. Sin diferencia estadística según C.V. =Coeficiente de variación.

El área foliar promedio de las cuatro variedades biofertilizadas con *R. intraradices* se incrementó 64.2 % con relación al control. En el caso de *A. brasilense* el incremento representó 57 % y el valor más alto (66.5 %) se alcanzó cuando se aplicaron los dos microorganismos juntos (Cuadro 4).

Entre variedades, el área foliar se incrementó en Geisha y Sarchimor con *R. intraradices*, pero la respuesta más generalizada fue con la interacción de la biofertilización doble. En cambio, la variedad Sarchimor expresa incremento superior al control cuando se incluyeron los microorganismos solos o combinados.

De los componentes fisiológicos del rendimiento, la mayor inducción del área foliar entre ambos microorganismos juntos y las variedades sugiere preferencia de la planta hospedante por los microorganismos, aun cuando la simbiosis endomicorrízica carece de especificidad taxonómica (Cuenca et al., 2007), sin embargo parece suceder cierta compatibilidad funcional entre la planta y los microorganismos introducidos.

Por su parte, Fernández et al. (1992) evaluaron cepas de *Glomus* sp., *Acaulospora scrobiculata* y *G. manihotis* en el crecimiento de *Coffea arabica* L. y encontraron incremento del área foliar con respecto al testigo. Los beneficios de la simbiosis micorrizica en inducir mayor área foliar en la planta hospedante se ha encontrado en

especies como *Tabebuia donnell-smithii* Rose (Aguirre-Medina et al., 2014), *Eucalyptus Camaldulensis* Dehnn (Pereira et al., 2001) y *Cedrela odorata* L (Aguirre-Medina et al., 2014).

Cabe mencionar que el crecimiento de la variedad Costa Rica-95, como resultado del cruce de Caturra x Híbrido de Timor, tiende a tener un crecimiento muy diferenciado, derivado de su herencia, con respecto a otras variedades (Julca et al. 2018).

4.2.2. Peso seco de lámina foliar

El peso seco de la lámina foliar de las cuatro variedades de *Coffea arabica* L. en interacción con dos microorganismos en el sistema radical, se presenta en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Peso seco de lámina foliar (g) de cuatro variedades de *Coffea arabica* L. biofertilizadas con *R. intraradices* y/o *A. brasilense* en vivero.

Tiempo (días)	Tratamiento	Marsellesa	Geisha	Sarchimor	Costa Rica 95
28	Testigo	0.080 a	0.096 a	0.084 a	0.083 a
	<i>R. intraradices</i>	0.186 a	0.078 b	0.085 a	0.075 b
	<i>A. brasilense</i>	0.080 a	0.063 c	0.074 a	0.072 b
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	0.060 a	0.096 b	0.088 a	0.064 c
	CV (%)	6.5	8.3	10.1	6.1
56	Testigo	0.023 c	0.035 b	0.045 b	0.016 c
	<i>R. intraradices</i>	0.106 a	0.092 a	0.083 a	0.058 b
	<i>A. brasilense</i>	0.057 b	0.112 a	0.086 a	0.097 a
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	0.099 a	0.096 a	0.093 a	0.101 a
	CV (%)	11.1	22.1	15.1	7.5
84	Testigo	0.113 b	0.224 a	0.132 b	0.191 c
	<i>R. intraradices</i>	0.254 a	0.231 a	0.242 a	0.227 b
	<i>A. brasilense</i>	0.237 a	0.262 a	0.239 a	0.197 c
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	0.230 a	0.249 a	0.235 a	0.263 a
	CV (%)	6.8	19.1	10.8	5.7
112	Testigo	0.263 b	0.234 c	0.172 c	0.121 c
	<i>R. intraradices</i>	0.313 ab	0.309 b	0.288 b	0.361 b
	<i>A. brasilense</i>	0.292 ab	0.341 ab	0.335 a	0.371 b

	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	0.336 a	0.386 a	0.341 a	0.439 a
	CV (%)	12.5	11.5	6.5	3.5
140	Testigo	0.252 c	0.490 c	0.514 c	0.230 c
	<i>R. intraradices</i>	0.681 b	0.945 a	0.786 b	0.987 b
	<i>A. brasilense</i>	0.675 b	0.752 b	0.808 ab	0.922 b
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	1.016 a	1.010 a	1.016 a	1.402 a
	CV (%)	10.3	12.3	14.9	10.0
168	Testigo	0.411 d	0.614 b	0.422 c	0.579 d
	<i>R. intraradices</i>	1.370 a	1.256 a	0.816 b	0.982 b
	<i>A. brasilense</i>	1.184 b	1.126 a	0.823 b	0.704 c
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	1.101 c	1.176 a	0.939 a	1.428 a
	CV (%)	6.0	12.3	8.1	4.8

Los valores son promedios de cuatro repeticiones \pm el error estándar y las letras que no son iguales en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$).

La asignación de materia seca a la lámina foliar de las variedades presentó diferencias estadísticas a partir del primer muestro. Se anota, que el testigo asignó mayor biomasa en las variedades Geisha y Costa Rica 95 y en las otras dos variedades, Marsellesa y Sarchimor, sin diferencias estadísticas entre tratamientos ($P \leq 0.05$).

La respuesta anterior sugiere establecimiento lento de los microorganismos en establecer la simbiosis en el sistema radical de la planta hospedante por aumento de la demanda de fotosintatos en raíz en comparación con el testigo.

En el caso del hongo endomicorrízico se incrementa la demanda de compuestos ricos en carbono y se establece un flujo de fotosintatos de la parte aérea hacia el sistema radical (Bowen 1987 y Bonfante y Perotto 1992) y es probable que los azúcares durante el establecimiento de la colonización no fueron suficientes y la misma tardó en establecerse, lo anterior junto al efecto en la promoción del desarrollo vegetal en la parte aérea de la planta hospedante.

En los muestreos siguientes, como a los 84 ddt, se presenta incremento consistente en tres variedades Marsellesa, Geisha y Sarchimor con la biofertilización de los

microorganismos, solos o combinados, excepto en la variedad Costa Rica 95, que el incremento solo se presentó con la simbiosis doble.

A partir de los 112 ddt y hasta los 168 ddt las diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$) más consistentes entre las variedades, se presentaron con la simbiosis doble.

Entre microorganismos no se encontró respuesta consistente en esta variable a las aplicaciones individuales de los biofertilizantes. La inducción en el desarrollo de mayor lámina foliar con los microorganismos ha sido más evidente en cultivos anuales (Aguirre-Medina 2006), aun cuando, en cacao se presenta una respuesta más importante con *Azospirillum* (Aguirre-Medina et al. 2007). La respuesta benéfica debido a la inoculación de *Azospirillum* fluctúa frecuentemente en el rango del 5 al 30% (Okon y Labandera 1994, Dobbelaere et al. 2001, Aguirre-Medina 2006).

En el caso de los hongos micorrizicos la respuesta en el rendimiento de maíz ha sido de 4-13% en Guanajuato (Grajeda-Cabrera 2008) y en Chiapas entre 15 y 29% (Cruz-Chávez 2008). Resultados semejantes obtuvo Aguirre-Medina et al. (2007), al biofertilizar con los dos microorganismos a *Teobroma cacao* L.

4.2.3. Peso seco del tallo

El peso seco del tallo de las cuatro variedades de *Coffea arabica* L. se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Peso seco del tallo (g) de cuatro variedades de *Coffea arabica* L. biofertilizadas con *R. intraradices* y/o *A. brasilense* en vivero.

Tiempo (días)	Tratamiento	Marsellesa	Geisha	Sarchimor	Costa Rica 95
28	Testigo	0.036 a	0.037 a	0.035 a	0.030 c
	<i>R. intraradices</i>	0.033 ab	0.034 a	0.033 ab	0.037 b
	<i>A. brasilense</i>	0.030 b	0.023 b	0.026 b	0.025 d
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	0.031 ab	0.035 a	0.045 a	0.041 a

		CV (%)	8.7	9.3	37.8	5.5
56	Testigo		0.044 b	0.044 b	0.582 b	0.027 d
	<i>R. intraradices</i>		0.073 a	0.066 a	0.075 a	0.052 c
	<i>A. brasilense</i>		0.046 b	0.073 a	0.064 ab	0.073 b
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>		0.081 a	0.076 a	0.071 a	0.088 a
		CV (%)	16.6	8.9	10.3	10.2
84	Testigo		0.108 c	0.160 b	0.079 c	0.144 c
	<i>R. intraradices</i>		0.174 b	0.223 a	0.237 a	0.229 a
	<i>A. brasilense</i>		0.216 a	0.233 a	0.211 ab	0.196 b
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>		0.218 a	0.242 a	0.171 b	0.223 a
		CV (%)	6.8	7.0	17.9	6.0
112	Testigo		0.106 c	0.143 c	0.066 c	0.140 b
	<i>R. intraradices</i>		0.213 b	0.218 b	0.178 b	0.249 a
	<i>A. brasilense</i>		0.210 b	0.225 b	0.211 a	0.246 a
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>		0.290 a	0.276 a	0.207 a	0.260 a
		CV (%)	8.3	8.8	5.8	4.6
140	Testigo		0.178 c	0.179 b	0.236 b	0.135 b
	<i>R. intraradices</i>		0.247 b	0.307 a	0.263 ab	0.256 a
	<i>A. brasilense</i>		0.196 bc	0.225 b	0.270 ab	0.249 a
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>		0.385 a	0.179 a	0.241 a	0.267 a
		CV (%)	12.4	11.6	16.2	8.3
168	Testigo		0.495 c	0.244 c	0.149 c	0.554 b
	<i>R. intraradices</i>		0.627 ab	0.592 b	0.358 b	0.708 a
	<i>A. brasilense</i>		0.707 a	0.752 a	0.440 a	0.447 c
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>		0.594 bc	0.555 b	0.384 ab	0.597 b
		CV (%)	10.1	7.7	12.4	8.1

Los valores son promedios de cuatro repeticiones \pm el error estándar y las letras que no son iguales en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$).

El peso seco del tallo principal de las cuatro variedades biofertilizadas fue mayor al testigo a partir de los 56 ddt y durante toda la evaluación. La mayor asignación de biomasa al tallo se presentó en los tratamientos inoculados con los microorganismos juntos desde los 28 ddt y se mantuvo en esta tendencia hasta los 140 ddt de la evaluación. Sin embargo, a este tiempo, el testigo no presenta diferencia estadística significativa con los microorganismos en tres variedades, que son, Marsellesa, Geisha y Sarchimor.

La respuesta de las variedades a la biofertilización fue más consistente con la coinoculación. Sin embargo en *Coffea arabica* var. Oro Azteca, la mejor respuesta en la asignación de biomasa al tallo fue con la biofertilización de los microorganismos por separado (Aguirre-Medina et al., 2011).

Este mismo hecho se consigna en *Lycopersicon esculentum*, con la inoculación de *G. fasciculatum* junto con *Azotobacter vinelandii*, en comparación con la inoculación de los tratamientos por separado (Mohandas 1987).

Existen evidencias en algunas comunidades vegetales, de que diversas especies de hongos son capaces de promover en forma diferencial el desarrollo vegetal. Otras observaciones demuestran la compatibilidad funcional entre las plantas y ciertas especies de hongos (Cuenca et al., 2007).

Es probable que el hongo endomicorrízico incrementa la biomasa en el tallo, aumentando el área de absorción radical y suministrando mayor cantidad de nutrimentos a la planta (Pedraza-Santos et al., 2001; Terry et al., 2001).

En el caso de *Azospirillum*, Ross y O' Neill (2001) sugieren que las auxinas producidas podrían promover, al menos en parte, la elongación del tallo por incrementar los niveles endógenos de giberelinas 3 β hidroxiladas.

4.2.4. Peso seco de raíz

El peso seco de la biomasa radical en las cuatro variedades de *Coffea arabica* L. biofertilizadas con *R. intraradices* y *A. brasilense*, se presentan en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Peso seco de raíz (g) de cuatro variedades de *Coffea arabica* L. biofertilizadas con *R. intraradices* y/o *A. brasilense* en vivero.

Tiempo (días)	Tratamiento	Marsellesa	Geisha	Sarchimor	Costa Rica 95
28	Testigo	0.027 c	0.386 a	0.026 b	0.036 a
	<i>R. intraradices</i>	0.036 b	0.346 b	0.032 ab	0.038 a

	<i>A. brasilense</i>	0.042 a	0.262 c	0.030 ab	0.027 b
	<i>R. intraradices</i>				
	+ <i>A. brasilense</i>	0.032 b	0.272 c	0.040 a	0.028 b
	CV (%)	7.2	6.8	19.1	10.1
56	Testigo	0.076 c	0.075 c	0.100 ab	0.075 c
	<i>R. intraradices</i>	0.121 a	0.110 b	0.114 a	0.095 b
	<i>A. brasilense</i>	0.092 b	0.133 a	0.188 b	0.118 a
	<i>R. intraradices</i>				
	+ <i>A. brasilense</i>	0.109 a	0.108 ab	0.112 a	0.116 a
	CV (%)	7.0	6.6	12.0	7.7
84	Testigo	0.171 c	0.152 c	0.136 b	0.127 c
	<i>R. intraradices</i>	0.227 a	0.344 b	0.176 a	0.174 b
	<i>A. brasilense</i>	0.203 b	0.213 b	0.190 a	0.205 a
	<i>R. intraradices</i>				
	+ <i>A. brasilense</i>	0.209 b	0.253 a	0.204 a	0.215 a
	CV (%)	4.4	6.6	9.1	4.4
112	Testigo	0.132 c	0.143 d	0.146 c	0.146 c
	<i>R. intraradices</i>	0.277 b	0.184 c	0.228 b	0.263 b
	<i>A. brasilense</i>	0.253 b	0.211 b	0.220 b	0.254 b
	<i>R. intraradices</i>				
	+ <i>A. brasilense</i>	0.333 a	0.269 a	0.268 a	0.374 a
	CV (%)	8.2	5.1	8.8	3.6
140	Testigo	0.148 c	0.210 c	0.236 a	0.228 c
	<i>R. intraradices</i>	0.382 b	0.343 ab	0.272 a	0.208 c
	<i>A. brasilense</i>	0.325 b	0.314 b	0.312 a	0.263 b
	<i>R. intraradices</i>				
	+ <i>A. brasilense</i>	0.502 a	0.372 a	0.274 a	0.300 a
	CV (%)	10.4	7.0	16.6	6.1
168	Testigo	0.189 c	0.319 d	0.218 b	0.531 b
	<i>R. intraradices</i>	0.815 b	0.509 c	0.502 a	0.620 a
	<i>A. brasilense</i>	0.887 b	0.617 b	0.460 a	0.461 c
	<i>R. intraradices</i>				
	+ <i>A. brasilense</i>	1.350 a	0.723 a	0.422 a	0.500 bc
	CV (%)	9.2	5.85	16.6	6.2

Los valores son promedios de cuatro repeticiones \pm el error estándar y las letras que no son iguales en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$).

El crecimiento radical de las variedades se incrementó en todos los muestreos con la biofertilización de los microorganismos en comparación con el testigo. En algunos casos, como a los 28 ddt, el incremento en Marsellesa fue con *A. brasilense*, en Geisha con el testigo, Sarchimor con la coinoculación de los dos microorganismos y Cosa Rica 95 con

R. intraradices. Es decir, no se presenta efecto consistente a este tiempo entre variedades y microorganismos.

En el muestreo a los 56 ddt la respuesta a mayor biomasa radical se presentó en las cuatro variedades con la coinoculación de los dos microorganismos. Sin embargo, la misma respuesta estadísticamente fue semejante en Marsellesa y Sarchimor con *R. intraradices* y en caso de Geisha y Costa Rica 95 con *A. brasilense*.

A. brasilense influye en la acumulación de biomasa radical al promover el desarrollo de los pelos radicales (Haahtela et al. 1988, Zimmer et al. 1988) mediante la producción de fitohormonas (Tien et al. 1979, Sarig et al. 1985, Martínez-Toledo et al. 1988) como el ácido indol acético (AIA) (Tien et al. 1979), y este efecto modifica la morfología y aumenta la biomasa radical (Scout 1972).

En cultivos anuales, como maíz y frijol en condiciones de campo, se ha consignado que *A. brasilense* ha demostrado capacidad para inducir mayor desarrollo radical cuando se inocula junto con *R. intraradices* (Dobbelaere et al., 2003; Aguirre-Medina, 2006)

En cambio en *Cedrela odorata* L. La mayor biomasa acumulada en el sistema radical y el vástago durante el primer muestreo se registró con el tratamiento de los tres microorganismos, *P. fluorescens* + *R. intraradices* + *A. brasilense*. (Aguirre-Medina et al., 2016)

4.2.5. Biomasa total

Las plantas biofertilizadas con alguno de los microorganismos, solos o combinados, indujeron mayor cantidad de biomasa de las plantas en comparación al testigo, este fenómeno se presentó en todas las variedades estudiadas (Cuadro 8).

Cuadro 8. Peso seco total (g) de las cuatro variedades de *Coffea arabica* L. biofertilizadas con *R. intraradices* y/o *A. brasilense* en vivero.

Tratamiento	Variedades (g.planta ⁻¹)
-------------	--------------------------------------

	Marsellesa	Geisha	Sarchimor	Costa Rica 95
Testigo	1.06 ± 0.09 b	0.86 ± 0.28 b	0.72 ± 0.11 b	1.46 ± 0.16 b
<i>R. intraradices</i>	2.80 ± .24 a	2.35 ± 0.25 a	1.63 ± 0.22 a	2.84 ± 0.39 a
<i>A. brasilense</i>	3.19 ± .32 a	2.49 ± 0.57 a	1.60 ± 0.30 a	2.33 ± 0.12 a
<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	2.55 ± .12 a	2.45 ± 0.64 a	1.70 ± 0.09 a	2.98 ± 0.24 a
C.V. (%)	18.17	12.11	28.79	21.25

Los valores son promedios de cuatro repeticiones ± error estándar. Las letras diferentes indican diferencia estadística según Tukey ($P \leq 0.05$). C.V. = Coeficiente de variación.

En general las cuatro variedades incrementaron su biomasa con la biofertilización de los microorganismos, solos o combinados y fueron estadísticamente superiores al testigo (Tukey $P \leq 0.05$).

La mayor expresión en peso seco se presentó en el tratamiento inoculado con *A. brasilense* en la variedad Marsellesa y Geisha. En cambio en la variedad Sarchimor este efecto se presentó cuando se biofertilizó con los dos microorganismos, sin embargo, valores muy similares se encontraron con la biofertilización de *R. intraradices* y *A. brasilense* por separado. En la variedad Costa Rica 95 el valor más contrastante se presentó con la simbiosis doble.

La diferencia promedio entre los tratamientos biofertilizados solos o combinados, reflejan incremento de su biomasa en 267 % con la variedad Marsellesa, 282 % en Geisha, 227 % en Sarchimor y 184 % en Costa Rica 95, en comparación con el testigo.

Los efectos anteriores se atribuyen a los diversos mecanismos de acción que ejercen los microorganismo en simbiosis con las plantas. En el caso de *A. brasilense*, se considera que el incremento de biomasa se asocia a su capacidad para producir auxinas (ácido indolacético) que promueven el crecimiento radical (Martínez y Sosa, 2011), además de su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Domingues *et al*, 2020).

Ojeda *et al* (2016), muestra que esta bacteria produce un incremento radical altamente significativo en pastos cubanos, específicamente en la especie *Megathyrasus maximus*,

en las etapas iniciales de los cultivos. Gamalero *et al.* (2004), menciona que *Azospirillum* estimula la densidad y longitud de los pelos radicales, aumentando así la cantidad de agua y nutrimentos permitiendo que las plantas sean más vigorosas.

Al respecto, en otra variedad de *Coffea arabica*, la Oro azteca la biofertilización de *A. brasilense* también indujo mayor desarrollo radical (Aguirre–Medina *et al.*, 2011), así mismo se presentó este efecto en *Coffea canephora* (Pierre) ex Froehner (Ibarra-Puón *et al.*, 2014), en Var. Bourbon (Adriano–Anaya *et al.*, 2011 y en *Theobroma cacao* L. (Aguirre-Medina *et al.*, 2007).

González (2022), afirma que la masa seca total de las plantas de café, puede incrementarse con la asociación de HMA, siempre y cuando los niveles de P (Fósforo) en la planta, se mantengan en un nivel intermedio, debido a que cuando son deficientes o muy elevados, la absorción del mismo es inefectiva e innecesaria, respectivamente.

En otros cultivos perennes, se han encontrado resultados semejantes con la biofertilización de *R. intraradices* y *A. brasilense* en diferentes sustratos, como en *Cedrela odorata* L. (Aguirre-Medina *et al.*, 2014) y en *Tabebuia donnell-smithii* (Aguirre-Medina *et al.*, 2014).

En cultivos anuales, como maíz y frijol en condiciones de campo, se ha consignado que *A. brasilense* ha demostrado capacidad para inducir mayor desarrollo radical cuando se inocula junto con *Glomus intraradices* (Dobbelaere *et al.*, 2003; Aguirre-Medina, 2006).

4.1.2. Asignación de materia seca final 168 ddt.

La inducción de la biomasa por componente del rendimiento de las plantas presenta diferencias entre variedades y microorganismos aplicados, solos o combinados (Cuadro 9).

Cuadro 9. Asignación de materia seca por componente fisiológico del rendimiento en las cuatro variedades de *Coffea arabica* L creciendo en vivero a los 168 ddt.

Variedad	Tratamiento	g.planta ⁻¹			
		Lámina foliar + peciolo	Tallo	Raíz	Total
Marsellesa	Testigo	0.37	0.50	0.19	1.06
	<i>A. brasilense</i>	1.37*	0.63	0.82	2.82
	<i>R. intraradices</i>	1.18	0.71*	1.35*	3.24
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	1.10	0.59	0.89	2.58
Geisha	Testigo	0.30	0.24	0.32	0.86
	<i>A. brasilense</i>	1.26*	0.59	0.51	2.36
	<i>R. intraradices</i>	1.13	0.75*	0.62	2.5
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	1.18	0.56	0.72*	2.46
Sarchimor	Testigo	0.36	0.15	0.22	0.73
	<i>A. brasilense</i>	0.82	0.36	0.50*	1.68
	<i>R. intraradices</i>	0.77	0.44*	0.40	1.61
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	0.96*	0.38	0.42	1.76
Costa Rica 95	Testigo	0.39	0.38	0.53	1.3
	<i>A. brasilense</i>	1.23	0.63*	0.65*	2.51
	<i>R. intraradices</i>	0.74	0.41	0.46	1.61
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	1.41*	0.60	0.50	2.51

*Los valores más altos registrados.

En relación con la lámina foliar, las variedades Marsellesa y Geisha presentan incremento en esta variable cuando fueron biofertilizadas con *A. brasilense*. En cambio en las variedades Sarchimor y Costa Rica 95, el valor más alto se presentó con la biofertilización dual *R. intraradices* + *A. brasilense*.

La mayor asignación de materia seca en el tallo se presentó en las variedades en el siguiente orden, Geisha biofertilizada con *R. intraradices*, Marsellesa con *R. intraradices*, Costa Rica 95 con *A. brasilense* y Sarchimor fue cuando se biofertilizó con *R. intraradices*

En el caso de la biomasa generada en el sistema radical de las variedades los valores más altos registrados fueron Marsellesa con la biofertilización de *R. intraradices*, en Geisha con la simbiosis doble, mientras que la Costa Rica 95 y var Sarchimor se incrementó al aplicar biofertilización a la semilla *A. brasilense*.

En este estudio, la coinoculación de bacteria fijadora de nitrógeno (BFN) y el hongo micorrízico arbuscular (HMA) mejoraron las variables evaluadas, en Lámina foliar + peciolo, tallo y raíz, esto en comparación con los tratamientos sin inocular, sin embargo es importante resaltar que los microorganismos actúan de formas diferentes de acuerdo a las variedades en las que se utiliza, pero todos contribuyen a una mayor asimilación de nutrientes que se ven reflejados en la cantidad de materia seca de la planta.

Este fenómeno es coincidente con lo ocurrido en el experimento de Harris *et al.* (2019) quienes aislaron y aplicaron cepas nativas de bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos endomicorrízicos en el cultivo de habas y las plantas biofertilizadas con las cepas nativas incrementaron 10 % en comparación al testigo. El efecto lo atribuyen al efecto benéfico de la simbiosis benéfica en las plantas.

Por su parte Vallejo *et al.* (2019) confirman que los efectos de los microorganismos en el sistema radical de las plantas mejoran la asignación de materia seca en los diferentes componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento.

En *Coffea arabica* L. Perea *et al.* (2019), citan que el crecimiento de las plantas de café, se favoreció al aplicar en consorcio hongos solubilizadores de P y hongos endomicorrízicos.

4.3. Parámetros de crecimiento.

4.3.1. Relación vástago/raíz.

Durante la investigación el registro indicó que la asignación de biomasa seca al vástago y la raíz de las variedades analizadas está influenciada por los microorganismos (Cuadro 10).

Cuadro 10. Relación vástago/raíz de cuatro variedades de *Coffea arabica* en interacción con *R. intraradices* y/o *A. brasilense* en vivero.

Tiempo (días)	Tratamientos	Relación Vástago/Raíz			
		Marsellesa	Geisha	Sarchimor	CR 95
28	Testigo	4.40*	3.76	4.75	3.38
	<i>R. intraradices</i>	7.34	3.31	3.71	2.59
	<i>A. brasilense</i>	2.57	3.40	3.40	3.87
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	2.79	4.44	5.19	1.75
56	Testigo	0.90	0.99	1.02	0.68
	<i>R. intraradices</i>	1.52	1.46	1.47	2.40
	<i>A. brasilense</i>	1.16	1.41	1.62	1.61
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	1.66	1.74	1.50	1.63
84	Testigo	1.49	2.31	1.95	2.66
	<i>R. intraradices</i>	1.95	2.26	2.76	2.51
	<i>A. brasilense</i>	2.21	2.31	2.34	1.93
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	2.15	1.93	2.05	2.37
112	Testigo	2.81	3.52	1.65	2.41
	<i>R. intraradices</i>	1.90	2.90	2.09	2.33
	<i>A. brasilense</i>	2.00	2.68	2.54	2.45
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	1.88	2.46	2.08	1.87
140	Testigo	2.92	3.38	3.25	1.87
	<i>R. intraradices</i>	2.48	3.72	3.91	6.01
	<i>A. brasilense</i>	2.65	3.13	3.17	4.64
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	2.80	3.63	4.66	5.64
168	Testigo	4.82	2.33	2.67	3.08
	<i>R. intraradices</i>	2.45	3.66	2.51	2.96
	<i>A. brasilense</i>	1.41	3.05	3.55	2.79
	<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	1.92	2.39	3.75	4.31

*Los valores son promedios de cuatro repeticiones.

Al inicio de la investigación, la variedad Marsellesa presenta el mayor incremento en vástago cuando se biofertilizó con *R. intraradices* y Sarchimor y Costa Rica 95 lo presentan con la biofertilización de los dos microorganismos. A los 56 días después del trasplante (ddt) la variedad Costa Rica 95 expresa mayor crecimiento aéreo asociada a *R. intraradices*.

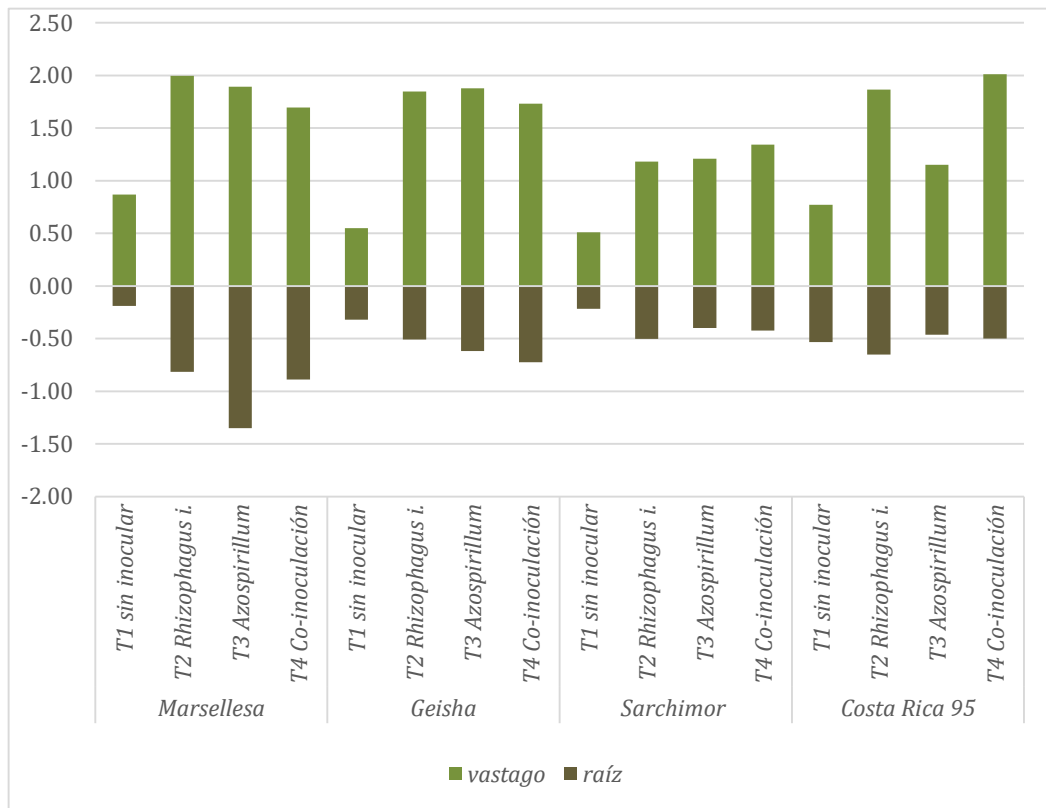


Figura 4. Relación vástago/raíz de cuatro variedades de *Coffea arabica* L. biofertilizadas con *R. intraradices* y/o *A. brasilense* a los 168 ddt en vivero.

En el caso de *A. brasilense*, los valores más altos de inducción en la biomasa aérea se presentaron a partir de los 84 ddt en las variedades Geisha y Sarchimor.

En el caso de la variedad Geisha fue notable que la mayor asignación a la biomasa aérea se expresó a los 112 ddt con los microorganismos solos o en co-inoculación.

En el muestreo destructivo a los 140 ddt *R. intraradices* expresó su mayor crecimiento aéreo en tres variedades, que fueron Geisha, sarchimor y Costa Rica 95.

En relación con la asignación de biomasa al vástago y la raíz, Las diferencias sugieren interacción entre la planta y los microorganismos, en particular, los que colonizan la rizósfera, específicamente por los metabolitos exudados de la raíz (Olanrewaju et al., 2019).

En el caso de *R. intraradices* los beneficios se asocian tanto en la absorción de agua como el transporte de nutrientes, que permite destinar menor cantidad de carbohidrato, producto de la fotosíntesis, a la elaboración y mantenimiento del sistema radical, con el consiguiente beneficio para el crecimiento aéreo de las plantas (Pereira et al., 2001).

El aumento en la relación raíz/vástago parece estar relacionada con el crecimiento modular de las plantas. Según Perreta y Vegetti (2005), el crecimiento se regula por caracteres genéticos que varían sólo en un rango específico de plasticidad fenotípica. La expresión del crecimiento modular de los estratos de la planta, mantienen unidos fisiológicamente los módulos e integran un todo, con una típica fase de crecimiento exponencial, seguida por un período en que la tasa de iteración de nuevos módulos y acumulación de biomasa, declina hasta alcanzar el tamaño máximo (Collado-Vides, 1997).

Varios estudios han demostrado que la coinoculación con hongos y bacterias induce efecto sinérgico en su interacción (Artursson et al., 2006; Lalitha et al., 2011), sin embargo, la demanda por carbohidratos se incrementa con la co-inoculación de más de un microorganismo, y se ha estimado que la planta en simbiosis con hongos endomicorrizicos, le transfiere alrededor del 20 % del total de carbono asimilado (Sylvia, 2005). En nuestro caso, el incremento en la acumulación de biomasa en el tratamiento con los dos microorganismos juntos, indica la compatibilidad funcional de los mismos con la planta y se sugiere que la planta hospedante pudo abastecer carbono suficiente a los microorganismos.

4.3.2. Tasa relativa de crecimiento (TRC)

La Tasa relativa de crecimiento, o la cantidad de materia seca producida por unidad de tiempo entre las variedades en interacción con los microorganismos, presenta similitud

entre tres de ellas, es decir, las variedades Marsellesa, Sarchimor y Costa Rica 95 presentan incremento inicial en su crecimiento seguido por un periodo de disminución del mismo (Figura 5).

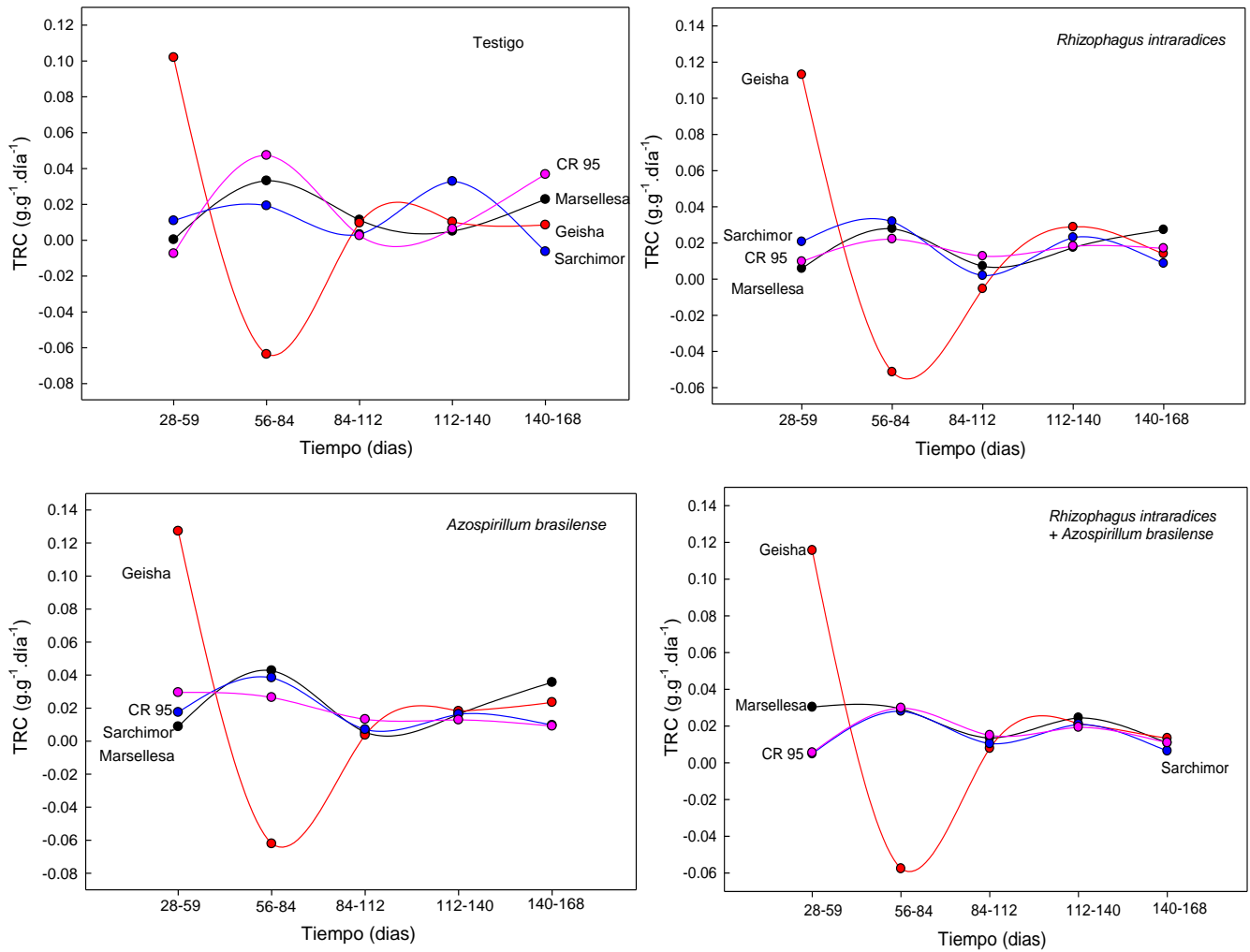


Figura 5. Tasa Relativa de crecimiento de cuatro variedades de café biofertilizadas con hongo endomicorrízico y/o bacteria fijadora de nitrógeno. Los valores son promedios de cuatro repeticiones.

La influencia de los microorganismos en esta variable presenta los valores más contrastantes con *A. brasilense* presenta la mayor velocidad de crecimiento con *Azospirillum brasilense* durante los primeros 84 y 140 ddt

La respuesta de la planta huésped es diferente entre las especies de hongos (Carling et al., 1979) y las plantas tienen respuesta diferente a los aislamientos geográficos cuando se inocula una misma especie (Bethlenfalvay, 1992). En todos los casos, la tasa relativa de crecimiento tiende a disminuir a través del tiempo debido principalmente a la mayor proporción de células que no se dividen en relación con las que sí lo hacen (Milthorpe y Moorby, 1982). En algunos cultivos anuales, se ha podido detectar que, alrededor de los 30 días después de la inoculación, ésta tiene como efecto un incremento en la tasa media relativa de crecimiento (Koucheiki y Read, 1976) y en el área foliar (Allen 1982).

Cargua *et al*, (2014), manifiestan que de los tratamientos realizados con biochar, un fertilizante proveniente de troncos y ramas de *Prosopis pallida*, biofertilizante a base de consorcio de cepas nativas de micorrizas, y fertilizante químico sintético, el incremento de masa seca y área foliar de plántulas de café se reflejan en la tasa relativa de crecimiento (TRC) en los tratamientos bajo la influencia de biofertilizante y mezcla de biochar y biofertilizante.

Lo anterior, derivado de que la asociación de los microsimbiontes solos, en consorcio ó en conjunto con algunos otros elementos o sustancias, tienen una influencia positiva en la formación de tejido vegetal (Alvarez *et al.*, 2019) y sugieren que el aumento de pH con cal es una alternativa para que los HMA promuevan la ganancia de biomasa seca área pero no en raíz.

4.3.4. Área foliar específica (AFE)

Al considerar el área foliar específica (AFE) como característica funcional para inducir crecimiento en las variedades con la interacción de los microorganismos, se encontraron los valores más altos con la biofertilización de los microorganismos solos (Figura 6).

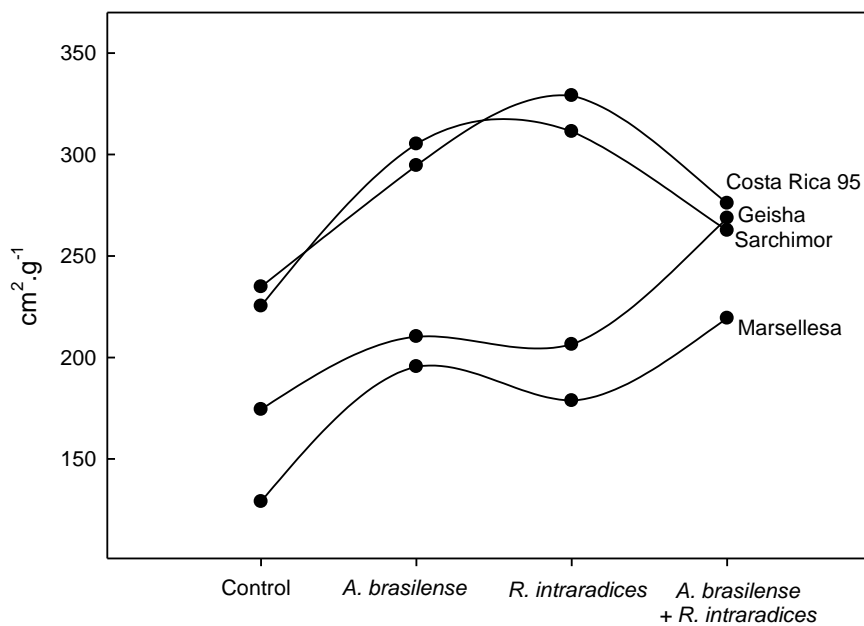


Figura 6. Área foliar específica de cuatro variedades de *Coffea arabica* L. biofertilizadas con *R. intraradices* y/o *A. brasilense* en vivero. Los valores con promedios de cuatro repeticiones a los 168 ddt.

En general, el tratamiento testigo representó la menor área foliar específica de toda la evaluación. Milthorpe y Moorby (1982) citan que la hoja, cuando deja de crecer, aumenta su grosor debido al crecimiento en el tamaño medio de las células del mesófilo, el peso específico foliar y la cantidad de cloroplastos por unidad de área, pero no en el contenido de clorofila; y también que hay una relación positiva entre el suministro de nutrientes minerales y la tasa de fotosíntesis, las cuales influyen en todo el complejo fotosintético. El área foliar específica puede a su vez estar influenciada por el desarrollo de nuevas hojas que pueden sombrear a las ya presentes en el dosel (Charles-Edwards, 1982).

4.4. Número de esporas por g de suelo

El número de esporas en el suelo donde crecieron las variedades de café se presentan en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Número de esporas por gramo de suelo en cuatro variedades de *Coffea arabica* L. creciendo con un hongo endomicorrízico y una bacteria fijadora de nitrógeno en vivero a los 168 ddt.

Microorganismo	Variedades			
	Marsellesa	Geisha	Sarchimor	Costa Rica 95
Testigo	39 ± 3.3 a	50 ± 3.8 a	32 ± 2.8 a	16 ± 1.2 a
<i>R. intraradices</i>	136 ± 11.77 c	106 ± 7.5 c	122 ± 6.8 c	222 ± 26.8 c
<i>A. brasilense</i>	84 ± 6.9 b	72 ± 21.4 b	59 ± 1.7 b	96 ± 13.4 b
<i>R. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	93 ± 1.7 b	80 ± 2.98 b	110 ± 8.8 b	160 ± 11.77 b
C.V. (%)	16.04	30.1	14.45	26.11

Los valores son promedios de cuatro repeticiones ± error estándar. Sin diferencia estadística según C.V. =Coeficiente de variación.

El sustrato donde crecieron las variedades fue solarizado, pero este proceso no elimina o destruye las esporas de los hongos endomicorrízicos. Lo anterior sugiere la presencia de otros hongos nativos en el sustrato.

Como es de esperarse, los valores más altos de número de esporas se presentaron en los tratamientos donde fue incluida *R. intraradices*. El tratamiento testigo presenta los valores más bajos de esporas. La presencia de esporas en el testigo se debe a que la solarización no destruye las esporas contenidas en el sustrato.

En el caso de *A. brasilense*, que es una bacteria fijadora de nitrógeno, los valores demuestran la compatibilidad funcional entre la microbiota del suelo. La inducción diferencial entre las variedades de café y los microorganismos podría estar relacionada con los exudados radicales de cada planta y su capacidad para favorecer la colonización de otros microorganismos que afectan el desarrollo morfológico de la raíz en la planta huésped (Berrabah et al., 2019) y en consecuencia mejorar su nutrición.

Estos antecedentes sugieren la contrastante funcionalidad de los microorganismos en interacción con las plantas (Jaderlund et al., 2008), como la respuesta encontrada con *L. leucocephala* (Aguirre-Medina et al., 2018).

Varios estudios han demostrado que la coinoculación con hongos y bacterias induce efecto sinérgico en su interacción (Artursson et al., 2006; Lalitha et al., 2011), sin embargo, la demanda por carbohidratos se incrementa con la coinoculación de más de un microorganismo, y se ha estimado que la planta en simbiosis con hongos endomicorrízicos, le transfiere alrededor del 20 % del total de carbono asimilado (Sylvia, 2005).

En cambio al incluir *A. brasilense*, se incrementó la colonización radical por los hongos endomicorrízicos. Lo anterior puede deberse a la generación de metabolitos especializados, como los flavonoides, que generan comunicación con otros miembros del fitobioma, para atraer rizobios (Berrabah et al., 2018) u hongos endomicorrízicos (Larose et al., 2002) y de esta manera, mejorar su adquisición de nutrientes y agua. En el caso de los flavonoides, se consideran compuestos de señalización para hongos endomicorrízicos que pueden influir en la germinación de esporas, crecimiento de hifas y colonización de raíces (Larose et al., 2002)

4.4.1. Correlación de biomasa total vs cantidad de esporas por g⁻¹ de suelo.

Se encontró relación alta entre las variables biomasa total y el número de esporas en el suelo donde crecieron las cuatro variedades de *Coffea arabica* L. (Figura 7).

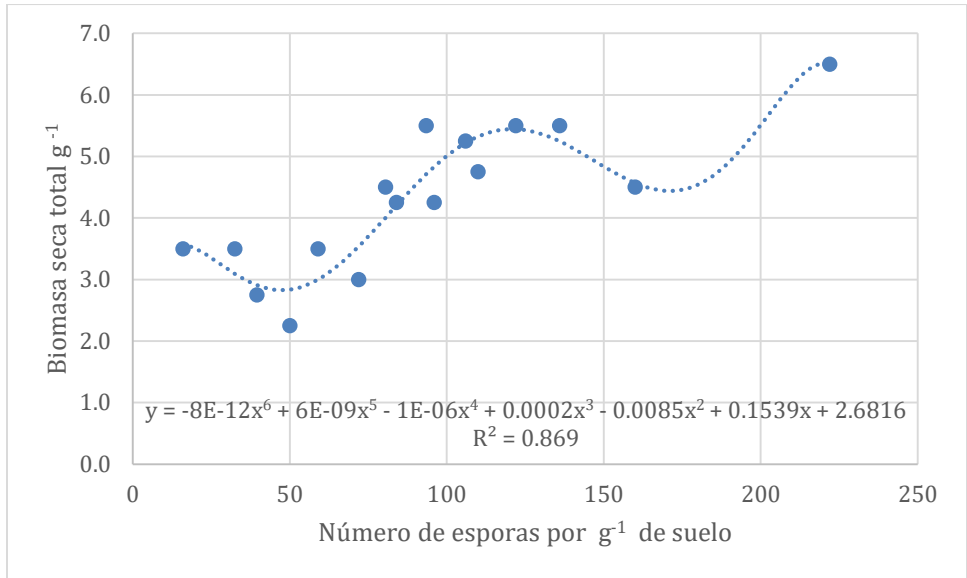


Figura 7. Correlación del número de esporas por g-1 de suelo con la biomasa seca total.

Al incrementar el número de esporas se induce mayor biomasa en la planta hospedante.

Como podemos observar en las figuras 15, 17, 18 y 19, la producción y supervivencia de esporas está directamente ligada al crecimiento de la planta, tanto dentro de la raíz de la planta hospedera como en su rizósfera, coincidente con Reyes Jaramillo (2011), afirma que las estructuras del hongo forma densas masas no estructuradas o bien en esporocarpos en o cerca de la superficie del suelo y la raíz.

V. CONCLUSIONES

La biofertilización de las cuatro variedades de *C. arabica* L. en vivero con alguno de los microorganismos biofertilizados individualmente y en coinoculación favoreció el crecimiento y la asignación de materia seca de los componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento en comparación con el testigo sin biofertilizar.

Los cambios más contrastantes en la asignación de materia seca en las cuatro variedades de café se presentan a partir de los 56 y 84 ddt y la expresión vegetal más alta y recurrente se presentó con la biofertilización de los dos microorganismos.

La biomasa aérea y radical de las variedades de *Coffea arabica* L. expresan respuesta diferencial en interacción con los microorganismos solos o en coinoculación.

Los parámetros de crecimiento en las cuatro variedades en interacción con los microorganismos en el sistema radical inducen crecimiento inicial lento seguido por un incremento del mismo en TRC y en AFE el incremento más notable es cuando se aplican los microorganismos por separado en dos variedades y en las otras con la coinoculación.

VI. LITERATURA CITADA

- Adriano Anaya, *et al.* (2011). Biofertilización de Café orgánico en etapa de vivero en Chiapas, México, *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2(3):417-431.
- Aguirre-Medina, J. F., J. Kohashi-Shibata, C. Trejo-López, J. A. Acosta Gallegos y J. Cadena-Iñiguez. (2005). Inoculación de *Phaseolus vulgaris* L. con tres microorganismos y su efecto en tolerancia a sequía. *Agricultura Técnica en México*. 31 (2): 125-137. Retrieved from <https://biblat.unam.mx/es/revista/agricultura-tecnica-en-mexico/9>.
- Aguirre-Medina JF. (2006) Biofertilizantes microbianos: experiencias agronómicas del programa nacional del INIFAP en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Tuxtla Chico, Chiapas, México. Libro Técnico Vol. 2. ISBN: 970-43-0039-5.
- Aguirre-Medina JF, Mendoza-López A, Cadena-Iñiguez J, Avendaño-Arrazate CH (2007) La Biofertilización del cacao (*Theobroma cacao* L.) en vivero con *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner y *Glomus intraradices* Schenk et Smith. *Interciencia* 32(8): 541-546.
- Aguirre-Medina JF, Moroyoqui-Ovilla DM, Mendoza-López A, Cadena-Iñiguez J, Avendaño-Arrazate CH, Aguirre-Cadena JF. (2011) Hongo endomicorrízico y bacteria fijadora de nitrógeno inoculadas a *Coffea arabica* en vivero. *Agronomía Mesoamericana*. 22 (1): 71-80. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v22n1/a09v22n1.pdf>
- Aguirre Medina JF, Culebro Cifuentes F, Cadena Iñiguez J, Aguirre Cadena JF (2014) Crecimiento de *Tabebuia Donnell-Smithii* (Rose) Inoculada con Hongos Micorrizicos y *Azospirillum brasilense*. *Agrociencia* 48(3): 331-345. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-31952014000300008&script=sci_abstract&lng=en
- Aguirre-Medina JF, Mina-Briones FO, Cadena-Iñiguez J, Dardón-Zunun JD, Hernández-Sedas DA (2014) Crecimiento de *Cedrela odorata* L. Biofertilizada con *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense* en vivero. *Revista Chapingo*

Serie Ciencias Forestales y del Ambiente XX: 177-186.
Doi:dx.doi.org/10.5154/r.rchscfa.2014.01.001

Aguirre-Medina, Juan Francisco, Aguirre-Cadena Juan Francisco y Ramón-Castro. Miguel Antonio. (2016). Crecimiento de *Tabebuia donnell-smithii* Rose coinoculada con endomicorriza y rizobacterias en vivero. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 7 (36): 99 – 112.
<http://cienciasforestales.inifap.gob.mx/editorial/index.php/Forestales/article/view/4289/3512>

Aguirre-Medina, J. F., Gálvez-López, A. L., & Ibarra-Puón, J. C. (2018). Growth of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit biofertilized with arbuscular mycorrhizal fungi in the nursery. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 24(1): 49-58. doi: 10.5154/r.rchscfa.2017.07.043

Aguirre-Cadena, JF., Aguirre-Medina, JF., Herrera-Aguilar, J. (2021). Influence of brassinosteroid in interaction with *Rhizophagus intraradices* in the acclimatization of banana clone. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology* 22(31&32):76-85.
ISSN: 0972-2025

Retrieved from <https://www.ikpress.org/index.php/PCBMB/article/view/6245>

Álvarez-Lopezello, J., Hernández-Cuevas, L. V., del Castillo, R. F., Robles, C. (2019). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Brachiaria brizantha* pastures in lowlands of Oaxaca, Mexico. *Grassland Science*. 65 (3): 197-201.

Allen MF, Moore TS Jr. and Christensen M. (1982). Phytohormone change in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizal. II. Altered levels of gibberellin-like substances and abscisic acid in the host plant. *Canadian Journal of Botany* 60: 468-471.

Artursson, V., Finlay, R. D. y Jansson, J. K. (2006). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environ. Microbiol.* 8 (1),1–10. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2005.00942.x

Barrera, J. F., & Parra, M. (2000). El café en Chiapas y la investigación en ECOSUR. *Ecofronteras*, 12, 3-6.

<https://revistas.ecosur.mx/ecofronteras/index.php/eco/article/view/429>

- Bethlenfalvai, G.S. (1992). Mycorrhizae in the agricultural plant-soil system. *Symbiosis*. 14: 413- 425
- Berrabah, F.; Salem, E.H.A.; Garmier, M.; Ratet, P. The multiple faces of the Medicago-Sinorhizobium symbiosis. In *Methods in Molecular Biology*; Humana Press: New York, NY, USA, 2018; Volume 1822, pp. 241–260, ISBN 9781493986330.
- Böhm W. (1979). *Methods of Studying Root Systems*. Springer. Berlín, Alemania. pp. 127-139.
- Bonfante-Fassolo, P. and Perotto, S. (1992). Plants and endomycorrhizal fungi: The cellular and molecular basis of their interaction. In: *Molecular signals in plant-microbe communications*. Verma, D.P. (Ed) CRC press Boca Raton. pp445-470
- Bowen, GD. (1987). *The Biology and Physiology of infection and its development*. En: Safir, GR. *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants*. CRC Press. Boca Raton. pp 27-57
- Cargua (2014) Cuantificación del Contenido de Carbono en una Plantación de Pino Insigne (*Pinus radiata*) y en Estrato de Páramo de Ozogoché Bajo, Parque Nacional Sangay, Ecuador. *Información Tecnológica*. 25. (3): 83-92 Doi: 10.4067/S0718-07642014000300011.
- Camarena G., G. (2012). Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 18(3):409-421. Doi:10.5154/r.rchscfa.2011.11.093
- Camelo R., M. Vera M., S.P. y Bonilla, B., R.R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12 (2),159-166.[fecha de Consulta 9 de Febrero de 2023]. ISSN: 0122-8706. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=449945031010>.
- Carling, DE, Brown, MF and Brown, RA. 1979. Colonization rates and growth responses to soybean plants infected by vesicular-arbuscular fungi. *Canadian Journal of Botany* 57(17): 1769-1772
- Charles-Edwards, DA. 1982. *Physiological determinants of crop growth*. Academic Press. Australia. 1612 p

- Collado-Vides L (1997) Aspectos ecológicos y evolutivos de la arquitectura modular en plantas: perspectivas en algas marinas. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 23-39. http://rchn.biologiachile.cl/pdfs/1997/1/Collado-Vides_1997.pdf
- Cruz-Chavez, F. 2008. Validación de Micorriza arbuscular en parcelas de productores de maíz en Chiapas. Informe anual de Labores del Programa de Biofertilizantes. Campo Experimental Centro de Chiapas. Centro de Investigación Regional del Pacífico Sur. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México. 10 p.
- Cuenca, R., A. Cáceres, R. Oirdobro, Z. Hasmy y Urdaneta, C. 2007. Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia* 32(1): 23-29.
- Dabrowska, G., Zdziechowska, E. 2015. The role of rhizobacteria in the stimulation of the growth and development processes and protection of plants against environmental factors. *Progress in Plant Protection*, 55(4): 498–506. <http://dx.Doi.org/10.14199/ppp-2015-083>
- Dobbelaere, S; Croonenborghs, A; Thys, A; Ptacek, D; Vanderleyden, J; Dutto, P; Labandera-Gonzalez, C; Caballero-Mellado, J; Aguirre, JF; Kapulnik, Y; Brener, S; Burdman, S; Kadouri, D; Sang, S; Okón J. 2001. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Australian Journal of Plant Physiology* 28(9):871-879.
- Dobbelaere S., Vanderleyden J., Okon, Y. 2003. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 22 (2):107-149. <https://doi.org/10.1080/713610853>
- Domingues D., Fernandes C., Cecato, U., Trento B., Mamédio, T., Divaney, & Galbeiro, S. 2020. *Azospirillum spp.* en gramíneas y forrajeras. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(1), 223-240. Epub 11 de junio de 2020. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i1.4951>
- Escalante, T. G. 2018. Los pequeños productores de café en Chiapas y el desarrollo de capacidades locales a partir del comercio justo. (pág. 160). Tijuana, Baja California, México: El Colegio de la Frontera Norte.

- Fernández, F; Cañizares, EG; Rivera, R; Herrera, RA. 1992. Efectividad de tres hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) y una cepa de bacteria solubilizadora de fósforo (BSF) sobre el crecimiento de posturas de café (*Coffea arabica* L.). *Cultivos Tropicales*,13(1): 23-27
- FIRA, (2019) Informe de Actividades/ Estudios Económicos/ Memorias 2019. Recuperado de: <https://www.fira.gob.mx/InfEspDtoXML/abrirArchivo.jsp?abreArc=100903> Fecha de Consulta 10 de Julio 2020.
- Gamalero E., A. Trotta, N. Massa *et al.* (2004). Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition. *Mycorrhiza* 14:185–192.
- García E. (1964) Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana) México D.F.
- Gerdemann, J.W., Nicolson, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from the soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46(2): 235-244. doi: 10.1016/S0007-1536(63)80079
- Grajeda-Cabrera, O. 2008. Desarrollo de manejo de suelo y prácticas de conservación para la producción agrícola sostenible y protección del ambiente. Informe anual de Labores del Programa de Biofertilizantes. Campo Experimental Bajío. Centro de Investigación Regional del Centro. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México. 10 p.
- Harris V., Citlalli *et al.* (2019). Crecimiento de haba en simbiosis con microorganismos nativos de regiones productoras del norte de Puebla, México. *Rev. Fitotecnia Mexicana* [versión online], vol.42, n.3, pp.243-250. ISSN 0187-7380.
- Haahtela, K; Laakso, T; Nurmiäho-Lassila, EL; Korhonen, TH. 1988. Effects of inoculation of *Poa pratensis* and *Triticum aestivum* with root-associated N₂-fixing *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Azospirillum*. *Plant and Soil* 106:239-248.
- Hunt, R. 1982. Plant growth curves. the functional approach to plant growth analysis. Edward Arnold, Londres, Reino Unido.
- Ibarra-Puón JC, Aguirre-Medina JF, Ley-De Coss A, Cadena-Iñiguez J, Zavala-Mata A (2014). Inoculación de *Coffea canephora* (Pierre) ex Froehner con *Rhizophagus*

- intraradices (Schenck et Sm.) Walker et Schuessler y *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner en vivero. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 20: 201-213. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2013.09.027>.
- INEGI. 2005. Marco Geoestadístico Municipal, versión 3.1. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. México. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/21/21158.pdf>. Fecha de consulta 1 de marzo del 2017.
- Jäderlund, L., Arthurson, V., Granhall, U. & Jansson, J. K. (2008). Specific interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting bacteria: as revealed by different combinations. *FEMS Microbiol Letters*, 287(2), 174–180. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01318.x>
- Koucheiki, H. K. and D. S. Read. 1976. Vesiculararbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. II. The relationship between infection and growth in *Festuca ovina* L. *The New Phytologist*. 77 (3): 655-666.
- Laderach, Peter; Hagggar, Jeremy P.; Lau, Charlotte; Eitzinger, Anton; Ovalle, Oriana; Baca, Maria; Jarvis, Andrew; Lundy, Mark. 2010. Mesoamerican coffee: building a climate change adaptation strategy. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, CO. 2 p. (CIAT Policy Brief No. 2). <https://hdl.handle.net/10568/70373>
- .Lalitha S, Rajeshwaran K, Senthil Kumar P, Deepa S. 2011. Role of AM fungi and rhizobial inoculation for reclamation of phosphorus deficient soil. *Asian J Plant Sci*, 10(3):227-232. doi: 10.3923/ajps.2011
- Larose, G.; Chênevert, R.; Moutoglis, P.; Gagné, S.; Piché, Y.; Vierheilig, H. Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus. *J. Plant Physiol.* 2002, 159, 1329–1339, doi:10.1078/0176-1617-00896
- Loredo, O.C., L. R. Lopez, D. V. Espinosa. 2004. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: una revisión. *Terra*. 22(2): 225-239.
- Maffi, L. (2014). Introduction to Biocultural Diversity. *Biocultural Diversity Toolkit* 1, pp. 6-16. Recuperado de <https://terralingua.org/shop/biocultural-diversity-toolkit/>

- Martinez-Sosa D, Helmreich B, Netter T, Paris S, Bischof F, Horn H. (2011). Anaerobic submerged membrane bioreactor (AnSMBR) for municipal wastewater treatment under mesophilic and psychrophilic temperature conditions. *Bioresour Technol.* 102 (22):10377-85. doi: 10.1016/j.biortech.2011.09.012. Epub 2011
- Martínez–Toledo, MV; De La Rubia, JT; Moreno, J; González–López, JT. 1988. Root exudates of *Zea mays* and production of auxinas, gibberelinas and citokinins by *Azotobacter chroococcum*. *Plant and soil* 110:149-152.
- Milthorpe, FL y Moorby J. 1982. Introducción a la fisiología de los cultivos. Ed. Hemisferio Sur. Argentina. p. 188-192
- Mosse, B. 1973. Advances in the study of VA micorrhiza. *Annual Review of Phytopathology.* 11: 171-196.
- Mohandas, S. 1987. Field response of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill “Pusa Ruby”) to inoculation with V–A fungus *Glomus fasciculatum* and with *Azotobacter vinelandii*. *Plant and Soil* 98:295-297.
- González-Osorio, H., Góngora Botero, C. E., Jaramillo Padilla, S. P., & Osorio, W. (2022). Plant growth and phosphorus uptake of coffee seedlings through mycorrhizal inoculation. *Agronomía Colombiana*, 40(1). <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v40n1.98599>.
- OIC. Organization Internacional of Coffe. 2020. Informe de Mercado. New York: INTERNATIONAL COFFE ORGANIZATION. Recuperado de: https://www.ico.org/es/new_historical_c.asp
- Ojeda-Quintana, L. J., Toledo-Vazquez, L., Hernández-Rodríguez, C., Machado-Díaz, Y., & Furrázola-Gómez, E. (2016). Influencia de la aplicación de *Azospirillum lipoferum* en *Megathyrus maximus* vc. guinea tobiatá en un suelo Pardo Grisáceo. *Pastos y Forrajes*, 39(1),27-32.[fecha de Consulta 9 de Febrero de 2023]. ISSN: 0864-0394. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269145163003>
- Okon *et al.*, (1988) Plant growth promoting effects of *Azospirillum*. In Bothe, de Bruijn, Newton. ed. Nitrogen fixation: hundred years after. Gustav Fischer. Stuttgart. p. 741-746.
- Okon, Y; Labandera, C. 1994. Agronomic Applications of *Azospirillum* evaluation of 20 years world wide field inoculation. *Soil Biology* 26(12):1591-1601.

- Olanrewaju, O.S., Ayangbenro, A.S., Glick, B.R., Babalola, O.O. 2019. Plant Health: Feedback effect of root exudates-rhizobiome interactions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 103, 1155–1166. DOI: 10.1007/s00253-018-9556-6
- Pedraza, M., Jaén, D., Gutiérrez, A., Colinas, T., & López, C. (2001). Crecimiento y nutrición de microplantas de gerbera inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares. *Agrociencia*, 35 (2),149-158. ISSN: 1405-3195.
- PND (2019) Plan Nacional de Desarrollo 2019-2024. Recuperado de: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5565599&fecha=12/07/2019#gs.tab=0
- Pereira, G., Sánchez, M., Ríos, D. & Miguel, A.H. (2001). Micorrizas vesículo arbusculares y su incidencia en el crecimiento de plántulas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnn. *Bosque*, 22(2), 39-44. <http://revistas.uach.cl/pdf/bosque/v22n2/art04.pdf>
- Pérez, A. Bustamante, C. Rodríguez, R. Díaz, A. Bertot, Y. Rodríguez, M.I. (2002). Influencia de diferentes variantes de fertilización en el crecimiento y desarrollo de posturas de *Coffea canephora* Pierre. *Cultivos Tropicales*, 23 (4),89-93.
- Perreta MG, Vegetti AC (2005) Patrones estructurales en las plantas vasculares: Una Revisión. *Gayana Botanica* 62(1): 9-19. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432005000100003>
- Phillips, JM; Hayman DJ. 1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:158-161.
- Sarig, S., Y. Kapulnik and Y. Okon. 1985. Effect of *Azospirillum* inoculation on nitrogen fixation and growth of several winter legumes. *Plant and Soil*. 90: 335-342
- SAS (Statistical Analysis System). (1999-2000). *SAS/STAT user's Guide: Ver 8.1* SAS Institute Inc. Cary NC, USA: SAS Institute Inc.
- SADER. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. 2019. *Producción de Café*. Ciudad de México: Compendio Estatal.
- SIAP. Sistema Informático Agropecuario y Pesca. 2020. *Anuario Estadístico*. Ciudad de México: Servicio Información Agroalimentaria y Pesquera.
- Scout, TK. 1972. Auxin and roots. *Annual Review of Plant Physiology*. 23: 235-258

- Sylvia, M. D. (2005). Mycorrhizal symbioses. En: Principles and Applications of Soil Microbiology (M. D. Sylvia, J. J. Fuhrmann, G. P. Harte and A. D. Zuberer, Ed.). Second Edition, Pearson Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey, USA. pp 263-282.
- Siguiera, J. O.; Franco, A. A. 1988 Biotecnología do Solo. Fundamento e perspectivas. Brasilia: Ministerio de Educacao. MEC 236 pp.
- Terry, Elein., Núñez, M.; Pino, M. de los A. Medina, N. (2001). Efectividad de la combinación biofertilizantes-análogo de brasinoesteroides en la nutrición del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Cultivos Tropicales, 22 (2),59-65.
- Tien, T. M., M. H. Gaskins and D. H. Hubell. 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). Applied and Environmental Microbiology. 37: 1016-1024.
- Trejo-Aguilar, D., Ferrera-Cerrato, R., Sangabriel-Conde, W. and Baeza, Y. (2018). Efecto de la micorriza arbuscular en plantas de café (*Coffea arabica* L.) infectadas por el nematodo de la corchosis de la raíz. Agro Productividad, 11(4): 98-104. Recuperado a partir de <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/276>
- Toledo V.M. y Moguel, M. (2012). Coffee and Sustainability: The Multiple Values of Traditional Shaded Coffee. Journal of Sustainable Agriculture, 36(3), 353-377. doi: 10.1080/10440046.2011.583719
- Vallejos T. G.; Arevalo, L.; Iliquin, I. y Solís, R. (2019) Respuesta en Campo de Clones de Café a la Inoculación con Consorcios de Hongos Micorrízicos Arbusculares en la Región Amazonas, Perú. Inf. tecnol., vol.30, n.6, pp.73-84. ISSN 0718-0764. [online]. <https://www.scielo.cl/pdf/infotec/v30n6/0718-0764-infotec-30-06-00073.pdf>.
- van der Heijden, M., Klironomos, J., Ursic, M. Klironomos, Ursic M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller T., Wiemken, A., & Sanders, I. R.1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, **396 (6709)**, 69–72 (1998). <https://doi.org/10.1038/23932>
- Zimmer, WK, Roeben, K, Bothe, H. 1988. An Alternative explanation for plant growth promotion by bacteria of the genus *Azospirillum*: Planta 176: 333-342

VII. APENDICE



Figura 6. Variedad Geisha, planta biofertilizada con *Rhizophagus intraradices* (Schenck & Sm.) y el testigo en la variedad Geisha a los 140 ddt

A.1. Distribución de análisis estadístico conforme variedad estudiada.

Análisis 1. Variedad Marsellesa.				Análisis 2. Variedad Geisha.				Análisis 3. Variedad Sarchimor.				Análisis 4. Variedad Costa Rica 95.			
T 1 Marsellesa Sin biofertilizar				T1 Geisha + Sin biofertilizar				T 1 Sarchimor Sin biofertilizar				T 1 Costa Rica 95 Sin biofertilizar			
R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
T 2 Marsellesa + <i>Azospirillum</i> <i>brasiliense</i>				T 2 Geisha + <i>Azospirillum</i> <i>brasiliense</i>				T 2 Sarchimor + <i>Azospirillum</i> <i>brasiliense</i>				T 2 Costa Rica 95 + <i>Azospirillum</i> <i>brasiliense</i>			
R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
T 3 Marsellesa + endomicorrizico (<i>Rhizophagus</i> <i>intraradices</i>)				T 3 Geisha + endomicorrizico (<i>Rhizophagus</i> <i>intraradices</i>)				T 3 Sarchimor + endomicorrizico (<i>Rhizophagus</i> <i>intraradices</i>)				T 3 Costa Rica 95 + endomicorrizico (<i>Rhizophagus</i> <i>intraradices</i>)			
R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
T 4 Marsellesa + endomicorrizico (<i>Rhizophagus</i> <i>intraradices</i>) + bacteria fijadora de nitrógeno (<i>Azospirillum</i> <i>brasiliense</i>)				T 4 Geisha + endomicorrizico (<i>Rhizophagus</i> <i>intraradices</i>) + bacteria fijadora de nitrógeno (<i>Azospirillum</i> <i>brasiliense</i>)				T 4 Sarchimor + + endomicorrizico (<i>Rhizophagus</i> <i>intraradices</i>) + bacteria fijadora de nitrógeno (<i>Azospirillum</i> <i>brasiliense</i>)				T 4 Costa Rica 95+ + endomicorrizico (<i>Rhizophagus</i> <i>intraradices</i>) + bacteria fijadora de nitrógeno (<i>Azospirillum</i> <i>brasiliense</i>)			
R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4