

Inoculación de rizobios favorecen el crecimiento de plántulas de *Coffea arabica* L. injertadas en vivero

Rhizobia inoculation favor the growth of *Coffea arabica* L. seedlings grafted in a nursery

Inoculação de rizóbios favorece o crescimento de mudas de *Coffea arabica* L. enxertadas em viveiro

Recibido: 02/05/2021 | Revisado: 06/05/2021 | Acepto: 07/05/2021 | Publicado: 22/05/2021

Sucleidi Nápoles Vinent

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3533-2956>

Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

E-mail: sucleidis@uo.edu.cu

Silfredo Milanés Riquene

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9528-1620>

Empresa Agroforestal de San Luis, Santiago de Cuba, Cuba

E-mail: produccion@agrofl.scu.minag.cu

Livan González Cobas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5850-9713>

Empresa Agroforestal de San Luis, Santiago de Cuba, Cuba

E-mail: desarrollo2@agrofl.scu.minag.cu

Claudio Osmar Alarcón Méndez

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3359-1268>

Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

E-mail: calarcon@uo.edu.cu

Rubén De Jesús Fernández Aguilera

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0770-5324>

Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

E-mail: ruben.fernandez@uo.edu.cu

Jorge González Aguilera

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7308-0967>

Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: j51173@yahoo.com

Resumen

El uso frecuente de fertilizantes de síntesis química acarrea graves problemas medioambientales, esto implica el uso de alternativas nutricionales para optimizar la producción del café en vivero, por lo que el empleo de bacterias promotores del crecimiento vegetal pudiera ser una alternativa de interés para estimular el desarrollo del cafeto. El objetivo de este trabajo fue evaluar la inoculación de cinco cepas de rizobios durante el proceso de obtención de plántulas de *Coffea arabica* cv. Isla 5-15 injertada sobre el patrón *Coffea canephora* cv. Robusta aviveradas bajo sombra natural, en relación a dos controles. Se realizaron dos inoculaciones una en las semillas antes de la siembra de las semillas de ambos cultivares y otra en el momento que se realizó el injerto hipocotiledonal, a través de la imbibición por una hora y 30 minutos respectivamente. Se evaluó porcentaje de germinación; altura de la plántula, diámetro del tallo y número de hojas verdaderas, a partir de los 30 días después del trasplante y con frecuencia mensual hasta los 150 días. Al final del período experimental se evaluó la masa fresca y seca radical y foliar, se determinaron los índices de esbeltez y de Dickson. Las semillas y los injertos inoculados originaron plántulas que mostraron diferencias significativas y superaron los resultados mostrados por los dos controles empleados para todas las variables evaluadas. Estos resultados sugieren el empleo de cepas de rizobios para la producción de posturas de café en el contexto de una agricultura sostenible.

Palabras clave: Crecimiento; *Coffea arabica*; *Coffea canephora*; Inoculación; Plántulas; Vivero de café.

Abstract

The frequent use of chemical synthesis fertilizers leads to serious environmental problems, this implies the use of nutritional alternatives to optimize the production of coffee in the nursery, so the use of plant growth-promoting bacteria could be an interesting alternative to stimulate development of the coffee tree. The objective of this work was to evaluate the inoculation of five strains of rhizobia during the process of obtaining seedlings of *Coffea arabica* cv. Isla 5-15 grafted on the *Coffea canephora* cv. Robusta pattern enlivened under natural shade, in relation to two controls. Two inoculations were carried out, one in the seeds before the sowing of the seeds of both cultivars and another at the time that the hypocotyledonal graft was carried out, through imbibition for one hour and thirty minutes respectively. Germination percentage was evaluated; seedling height, stem diameter and number of true leaves,

starting 30 days after transplantation and monthly up to 150 days. At the end of the experimental period, the fresh and dry root and foliar mass were evaluated, the slenderness and Dickson indices were determined. The inoculated seeds and grafts originated seedlings that showed significant differences and surpassed the results shown by the two controls used for all the variables evaluated. These results suggest the use of rhizobia strains for the production of coffee seedlings in the context of sustainable agriculture.

Keywords: Growth; *Coffea arabica*; *Coffea canephora*; Inoculation; Seedlings; Coffee nursery.

Resumo

O uso frequente de fertilizantes de síntese química acarreta graves problemas ambientais, o que implica na utilização de alternativas nutricionais para otimizar a produção do café no viveiro, de forma que o uso de bactérias promotoras do crescimento vegetal pode ser uma alternativa interessante para estimular o desenvolvimento da cultura. árvore de café. O objetivo deste trabalho foi avaliar a inoculação de cinco cepas de rizóbio durante o processo de obtenção de mudas de *Coffea arabica* cv. Isla 5-15 enxertadas em *Coffea canephora* cv. Robusta padrão vivificado à sombra natural, em relação a duas testemunhas. Foram realizadas duas inoculações, uma nas sementes antes da semeadura das sementes de ambas as cultivares e outra no momento da realização do enxerto hipocotiledonar, através de embebição por uma hora e trinta minutos respectivamente. A porcentagem de germinação foi avaliada; altura da muda, diâmetro do caule e número de folhas verdadeiras, iniciando 30 dias após o transplante e mensalmente até 150 dias. Ao final do período experimental, foram avaliadas a raiz fresca e seca e a massa foliar, determinados os índices de esbeltez e de Dickson. As sementes e enxertos inoculados deram origem a mudas que apresentaram diferenças significativas e superaram os resultados apresentados pelos dois controles utilizados para todas as variáveis avaliadas. Esses resultados sugerem o uso de linhagens de rizóbio para a produção de mudas de café no contexto de uma agricultura sustentável.

Palavras-chave: Crescimento; *Coffea arabica*; *Coffea canephora*; Inoculação; Mudas; Viveiro de café.

1. Introducción

El café (*Coffea arabica* L.) es uno de los productos básicos tropicales más importante y como bebida, disfruta de ella un número cada vez mayor de consumidores de todo el mundo (OIC, 2019). El mayor consumo se concentra en los países desarrollados, mientras que el 90% de las plantaciones se concentra en los países en vía de desarrollo (Canet et al., 2016). Cuba es uno de estos países que lo cultivan y en la estructura agraria cubana constituye uno de los cultivos tradicionales, siendo en la actualidad un rubro exportable de significativa importancia económica, de alta demanda por los consumidores nacionales y la base fundamental de la economía en las zonas montañosas (Ramajo et al., 2013).

En la realidad de Cuba, el estado ha proyectado un programa de desarrollo para el cultivo de café con el objetivo de impulsar la productividad para alcanzar un crecimiento económico sustentable de manera progresiva, en el que una de las líneas de trabajo del Grupo Agroforestal (GAF) es la introducción de los resultados de la ciencia y la técnica, y entre esos resultados se destaca el injerto con el patrón de café de la variedad robusta, el cual tiene entre sus características la resistencia a los nematodos (Santos et al., 2017) y tolerante a la sequía (Quintana et al., 2017).

En este sentido, Sánchez et al. (2019) expresaron que el rendimiento, la calidad organoléptica y la resistencia a plagas y enfermedades son características que presentan cultivares mejorados de café; para tal fin se emplea el método de injerto hipocotiledonal, el cual consiste en utilizar un patrón (porta injerto) de *Coffea canéphora* P y una yema de *Coffea arábico* L. (Cantos et al., 2018). Las especies *Coffea arabica* L. (arábica) y *C. canephora* Pierre (Robusta) son las que predominan económicamente en el comercio mundial del café; sin embargo, el café Robusta (*C. canephora* P.) es más vigoroso y productivo, resistente a plagas y enfermedades, y se desarrolla mejor en climas cálidos que el arábica por eso su uso ha sido cada vez más frecuente (Quintana et al., 2017).

En relación a la interacción injerto-portainjerto, esta respuesta depende de diversos factores como el material vegetal usado y las condiciones climáticas donde se desarrollan las plantas injertadas (Barbosa et al., 2014). Al estar envueltos factores genéticos y ambientales, la respuesta de la planta es muy variada y además única o restringida en función de las características locales.

Parte importante del éxito en el desarrollo de los cafetales lo determina la calidad del material que se lleva al campo. A su vez, el vigor de las plantas depende de las buenas prácticas que se realicen para obtenerlas, entre las cuales tienen especial importancia aquellas relacionadas con la nutrición (Khalajabadi y González, 2014). La nutrición en la fase de vivero de café es esencial, donde la presencia de adecuados niveles de nitrógeno y fósforo en el sustrato juega un papel principal para garantizar los requerimientos de estos nutrientes en esa fase del cultivo (Martins et al., 2013; Khalajabadi y González, 2014).

Es conocido que la inoculación a partir de bacterias con propiedades benéficas, representa una alternativa de gran interés (Cisneros et al., 2017), y en especial para el desarrollo del cultivo de café en el contexto de una agricultura sustentable. Los rizobios son una de estas bacterias que tienen la capacidad de colonizar activamente el sistema radicular para favorecer su crecimiento y rendimiento de plantas no leguminosas (Pérez et al., 2019). Bacterias del género Rizobios han sido empleadas para estimular el desarrollo de diversas especies de plantas como *Moringa oleifera* Lam (Mazher et al., 2014), *Theobroma cacao* (Suprano et al., 2015), *Oryza sativa* L. (Hernández y Nápoles, 2017), *Arachis hypogaea* L. (Priya et al., 2019), *Zea mays* L. (Pérez et al., 2019), *Vigna unguiculata* L. Walp. (Hara et al., 2021), entre otros.

Estudios realizados por González et al. (2015) demostraron que el Bioenraiz® bioproducto regulador del crecimiento vegetal obtenido a partir de una cepa de *Rhizobium* sp., favoreció la germinación y desarrollo de las plántulas de *C. arabica* cv. Caturra rojo aplicado exógenamente sobre diferentes etapas de su crecimiento. No obstante, resultan escasas las evidencias científicas del efecto de otras cepas nativas de rizobios en la caficultura, por lo que el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de las inoculaciones de aislados de rizobios durante la obtención de plántulas del *C. arabica* injertadas sobre el patrón canephora.

2. Materiales y Métodos

2.1 Condiciones experimentales

La presente investigación es una investigación experimental, cuantitativa, que sigue los fundamentos de este tipo de investigación, tal y como recomiendan Pereira et al. (2018). La investigación se desarrolló en la etapa de vivero del cultivo de café, durante la campaña 2018-2019 en la Unidad Básica de Producción y Cooperativas (UBPC), "La Caoba" ubicada en el consejo popular La Caoba del municipio San Luis de la provincia Santiago de Cuba, cuyo sitio está en la cordillera Sagua-Nipe-Baracoa, a 550 m.s.n.m.

2.2 Material biológico

Se usó como portainjerto *Coffea canephora* cv. Robusta y como injerto fue usado *C. arabica* cv. Isla 5-15, ambos caracterizado por alto potencial productivo. Tanto el portainjerto como los injertos fueron obtenidos a partir de semillas procedentes del Banco de semilla de la misma UBPC. Se utilizaron cepas procedentes del cepario de Bacteriología del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). Las cepas empleadas fueron seleccionadas en estudios previos y se comprobó el efecto estimulador del crecimiento vegetal de las cepas *Rhizobium* sp. Rpd16, Rpr2, Rpr11 aisladas de la rizósfera de arroz (Hernández y Nápoles, 2017; 2019) y *Rhizobium* sp C1 y C19-2 procedentes del cultivo de maíz (Pérez et al., 2019).

2.3 Tratamiento a la semilla

Las semillas previamente seleccionadas fueron embebidas en el inoculo por una hora antes de realizar la siembra (Priya et al., 2019). Para la obtención de los diferentes inóculos, se partió de pre inóculos que se prepararon a partir de una asada de las cepas, conservadas en tubos con medio Levadura Manitol (LM) (Vincent, 1970) sólido a 4 °C, en frascos Erlenmeyers de

100 mL de capacidad que contenían 10 mL del mismo medio de cultivo líquido. Los Erlenmeyers se incubaron en condiciones de agitación a 150 rpm y 28 °C, durante 20 h. Los preinóculos se emplearon para inocular Erlenmeyers de 500 mL de capacidad, que contenían 100 mL de medio LM estéril y se colaron en condiciones de crecimiento similares a las descritas anteriormente para los pre inóculos. Después de crecer los inóculos fue evaluada su concentración y ajustada para una concentración celular de 1×10^{10} UFC mL.

2.4 Fase de germinador

Para la germinación de las semillas se usaron canteros de un 1 m de ancho, 0.30 m de altura y 3 m de largo, y como sustrato fue empleado arena de río lavada, tamizada y desinfectada con un tratamiento térmico (80 °C por 1 hora). Una vez colocadas las semillas inoculadas con las cepas de rizobios y sin inocular correspondiente control. En el sustrato después de depositadas las semillas se procedió a taponarlas con una fina capa de arena de 0.5-1.0 cm de altura y se colocó una malla de polipropileno de color negro de 50 % de sombra neutra para crear un microclima adecuado en etapa inicial de crecimiento de las plántulas. A los 65 días después de la siembra se procedió al injerto tipo hendidura o hipocotiledonar, de acuerdo con lo indicado por la Asociación Nacional de Café (ANACAFE, 2017). El proceso de injerto fue realizado cuando el patrón estaba en estado de “mariposa” (Figura 1A) y el injerto en estado de “fosforito” (Figura 1B).

Figura 1. Desarrollo del proceso de injerto del patrón cultivar Robusta en estado de “mariposa” (A) y el injerto cultivar Isla 5-15 en estado de “fosforito” (B).



Fuente Autores.

2.5 Fase de almácigo o propagador

Para la instalación del almácigo se reinocularon las plántulas injertadas, sumergiendo su sistema radicular en un vaso que contenían 1 mL del inóculo diluido 9 mL de agua, para un volumen final de 10 mL, durante treinta minutos a temperatura ambiente bajo condiciones de sombra (Cisnero et al., 2017) como mostrado en la Figura 2. Se usaron bolsas de polietileno negro de 17 x 23 cm con 1 kg de sustrato, en la que se colocó una planta injertada. Como sustrato se usó una mezcla de suelo Pardo Mullido (Hernández et al., 2015) y cachaza como materia orgánica en una proporción de 2:1 (v:v), complementado con fertilización fosfórica, utilizando superfosfato triple (SFT), a razón de $10,9 \text{ kg m}^{-3}$ de la mezcla. El análisis del sustrato fue en el laboratorio de suelos de la provincia de Granma, Cuba y sus características químicas se detallan en la Tabla 1.

Figura 2. Momento de inoculación de las posturas injertadas de café.



Fuente Autores.

El tipo de vivero empleado fue con sombra natural utilizándose *Ricinus communis* (higereta). En relación con el manejo agronómico en esta fase, los riegos fueron frecuentes para mantener el sustrato en capacidad de campo. El control de malezas fue manual para evitar daños a las plántulas de café. Se realizó una aplicación foliar mensual de urea al 1% (1 Kg de urea en 100 L de agua) a partir de que las posturas lograron el tercer par de hojas verdaderas. En esta etapa la combinación de inóculos y de sustratos dio lugar a los tratamientos evaluados y son descritos en la Tabla 2.

Tabla 1. Características químicas del sustrato usado en vivero durante el experimento.

Sustratos	Características			
	pH (KCl)	P ₂ O ₅ (mg 100 g)	K ₂ O (mg 100 g)	MO (%)
Suelo del vivero	5.7	21.58	52	1.9
MO (cachaza)	5.1	4.5	+100	3
Suelo + MO	5.8	14.5	77.1	2.5
Suelo+MO+Fertilizante	5.5	4.75	34.544	2.5

MO: materia orgánica. Fuente: Laboratorio de suelos de la provincia de Granma, Cuba.

Tabla 2. Descripción de los tratamientos empleados en el propagador.

Tratamientos		
T1	<i>Rhizobium</i> sp. C1	Suelo+ MO+ PF
T2	<i>Rhizobium</i> sp. C19-2	Suelo+ MO+ PF
T3	<i>Rhizobium</i> sp Rpd16	Suelo+ MO+ PF
T4	<i>Rhizobium radiobacter</i> Rpr-11	Suelo+ MO+ PF
T5	<i>Rhizobium alamii</i> Rpr2	Suelo+ MO+ PF
T6	Control productivo (sin cepas)	Suelo+ MO+ PF
T7	Control absoluto (sin cepas)	Suelo + MO

MO: materia orgánica, PF: portador fosfórico. Fuente Autores.

2.6 Variables evaluadas en la investigación

El porcentaje de germinación de las semillas fue evaluada a los 60 días posteriores a la siembra. Una vez realizado el injerto se procedió a evaluar 10 posturas seleccionadas al azar por unidad experimental, mensualmente, hasta los 150 días. Las variables evaluadas en estas posturas fueron: la altura de planta (cm), para lo cual se midió la longitud del tallo desde la base del mismo hasta el ápice; el diámetro de tallo (mm), en este caso la medición se realizó a un centímetro encima de la zona de injerto y finalmente, se anotó el aumento del número de hojas (Julca et al., 2018). A los 150 días se determinó también la masa seca de planta (g), relación parte aérea/raíz, Índice de Esbeltez (IE) e Índice de Calidad de Dickson (ICD) el cual integra la relación entre la masa seca total de la planta (g) y la suma del IE y la relación parte seca aérea/parte seca radical o Índice de Tallo-Raíz (ITR).

En el caso del IE, se usó la fórmula A/D (Julca et al., 2018). De acuerdo con Encalada et al. (2017) el ICD se calculó con la fórmula $MST/[(A/D) + (MSPA/MSR)]$, siendo D: diámetro de tallo (mm), A: altura de planta (cm), MST: peso seco total (g), MSPA: masa seca de la parte aérea (g) y MSR: masa seca de la raíz (g). Para la masa seca se separaron las partes aéreas y de raíz de cada planta y luego se colocaron en una estufa a 75 °C hasta peso constante.

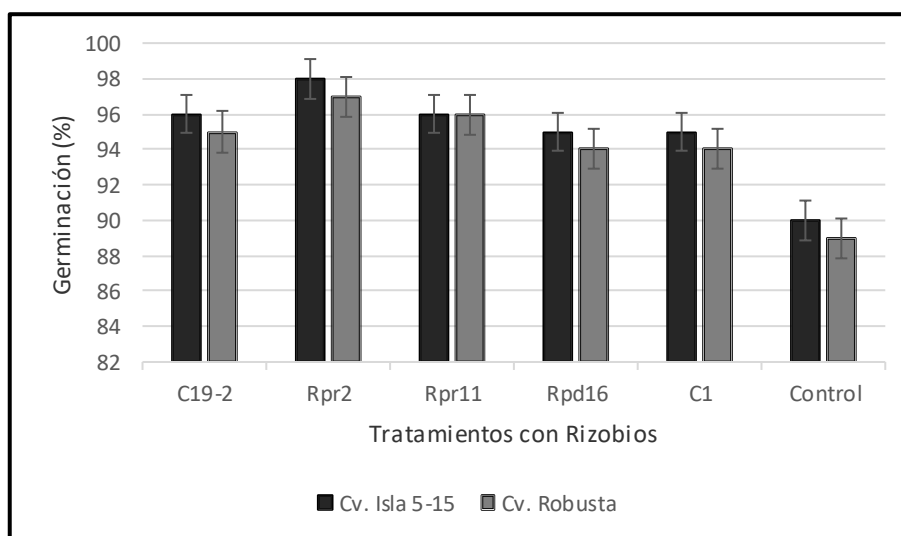
2.7 Diseño y análisis estadísticos de datos

Se utilizó en la etapa del pregerminador un diseño completamente al azar (DCA) con 6 tratamientos, siendo diez el número de repeticiones por tratamientos y cada repetición con 100 semillas. En la etapa de propagador se empleó un diseño de bloques al azar (DBA), dando un total de 7 tratamientos y cuatro réplicas, para un total de 28 unidades experimentales. Cada unidad experimental estuvo compuesta por 16 posturas de cafeto, es decir 64 posturas por tratamiento. Una vez hechas las evaluaciones, se realizó un ANOVA y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey (95%). Se utilizó el software estadístico SPSS ver. 19 para Windows.

3. Resultados y Discusión

Al analizar el comportamiento de la germinación de las semillas de cafeto Isla 5-15 y Robusta a los 60 días después de la siembra, se observó que la inoculación con las bacterias de rizobios tuvo un efecto significativo sobre dicho proceso comparado con el control (Figura 3). Efecto atribuible a la capacidad relevante de las cepas de rizobios de producir compuestos indólicos (Hernández y Nápoles, 2017; 2019), involucrados en el alargamiento y división celular, diferenciación de tejido, cambios que acompañan a la germinación. Se plantea que al ejercer las auxinas acción positiva sobre estos procesos relacionados con el sistema radical, provocan la reducción de la presión de la pared e inducen la síntesis de enzimas específicas, lo que conlleva al aumento de la plasticidad de la pared celular y favorece la germinación (González et al., 2015).

Figura 3. Distribución de la germinación del *C. arabica* cv. Isla 5-15 y de *C. canephora* cv. Robusta con inoculación de rizobios. Las barras indican el intervalo de confianza (Tukey $p < 0,05$).



Fuente: Resultados de la investigación.

La inoculación con la cepa Rpr2, permitió obtener los mejores resultados, valores que se diferencian significativamente de los resultados obtenidos con el resto de los tratamientos para ambos cultivares y oscilaron entre 97 y 98 % de germinación para el cultivar Robusta e Isla 5-15, respectivamente (Figura 3). Es importante señalar que aunque las otras cuatro cepas bacterianas arrojaron valores de germinación inferiores, estos superaron a lo logrado con el control para ambas cultivares; quizás mediante el desbalance de auxinas, de manera que pueden afectar en forma positiva (Spaepen y Vanderleyden, 2011). Es de destacar, que la diferencias entre las cepas de rizobios puede depender de la cantidad de AIA producida y la sensibilidad del tejido de la semilla a los cambios en la concentración de AIA (Leveau y Lindow, 2005), resultado contactado en nuestro trabajo.

Estos resultados corroboran que las semillas de café inoculadas con bacterias promotoras del crecimiento, incrementan el porcentaje de germinación (González et al., 2015), destacando que en el incremento obtenido en este estudio superó lo informado en el cultivar de café Típica por Fernández (2015). Así como, los resultados obtenidos evidencian el efecto favorable de los rizobios en la germinación del cafeto por lo que resultaría muy atractivo su empleo para tal fin.

Por otra parte, los resultados evidencian que la inoculación tuvo un efecto significativo sobre el desarrollo de las plántulas injertadas de cafeto tratadas con las cepas Rpd16 y Rpr2, obteniéndose diferencias significativas con respecto a los controles para las variables altura, diámetro del tallo, número de pares de hojas (Tablas 3 y 4). Los resultados analíticos del sustrato empleado, muestran que el pH afectaría positivamente el establecimiento del cultivo y de los rizobios, así como la interacción entre ambos organismos. El contenido de fósforo asimilable (P_2O_5 mg/100g) se encuentra muy bajo, en cambio el potasio asimilable (K_2O mg/100gr) alto y el contenido de materia orgánica, se encuentran entre bajo y medio, lo cual condiciona, en gran medida, la distribución de los principales grupos microbianos en el suelo y potencia su crecimiento en aquellas zonas donde existe una mayor disponibilidad de los nutrientes (Ruiz, 2013).

Tabla 3. Altura de planta y diámetro del tallo en cada momento de evaluación del desarrollo de injertos de cafeto.

Tratamientos	-----AP (cm)-----				-----DT (mm)-----			
	1 ^{ra}	2 ^{da}	3 ^{ra}	4 ^{ta}	1 ^{ra}	2 ^{da}	3 ^{ra}	4 ^{ta}
C1	6.69 d	10.42 d	11.40 d	12.77 d	1.52 a	1.65 a	1.97 b	2.50 b
C19-2	7.61 c	11.13 c	12.06 c	14.54 c	1.53 a	1.84 a	2.55 a	2.43 a
Rpd16	8.12 b	12.75 b	13.15 b	16.08 b	1.65 a	2.07 a	2.35 a	2.83 a
Rpr11	7.08 c	11.28 c	12.28 c	14.77 c	1.54 a	1.88 a	2.41 a	2.73 a
Rpr2	9.97 a	13.14 a	14.57 a	17.73 a	1.88 a	2.03 a	2.64 a	2.99 a
Control Productivo	6.92 d	10.23 d	11.22 d	13.08 d	1.57 a	1.70 a	1.85 b	2.38 b
Control absoluto	5.97e	8.62 e	9.82 e	10.41 e	1.35 a	1.45 a	1.59 b	2.29 b
EE	0.4	0.54	0.63	0.7	0.07	0.09	0.11	0.16

AP: altura de la planta, DT: diámetro del tallo, EE: error estándar. Medias con letras iguales no difieren significativamente para el teste Tukey a $p < 0,05$. Fuente: Resultados de la investigación.

La altura de las plántulas de cafeto en la fase de vivero estuvo significativamente influida por las cepas de rizobios en los cuatro momentos de evaluación, al parecer las cepas empleadas favorecen la disponibilidad de fósforo (P) y así se estimula su desarrollo. En el testigo absoluto se observaron las plantas de café más pequeñas y menos desarrolladas.

El P es el nutriente que limita la producción, debido a la alta reactividad del elemento que le permite interactuar químicamente con la materia orgánica, con la superficie mineral de los coloides y con las formas activas de algunos cationes presentes en la solución del suelo (Martins et al., 2013). En especies como el café, el P es importante en las primeras fases de su desarrollo, ya que mejora y aumenta de manera significativa su sistema de raíces (Cisnero et al., 2017).

La variable DT mostrada en la Tabla 3 no manifestó grandes variaciones. Apenas en los dos últimos momentos de evaluación las diferencias a favor de los rizobios se hicieron notar, diferenciándose estos de los dos controles, con la única excepción de la cepa C1 que para esta variable no se diferenció de los controles.

Al emplear cepas bacterianas del género *Rhizobium*, durante las fases de crecimiento y desarrollo de plántulas injertadas de cafeto *C. arabica* Isla 5-15 sobre *C. canephora* cv. Robusta, se obtuvieron resultados favorables para el número de pares de hojas (Tabla 4). Observase que los tratamientos con presencia de las cepas de rizobios fueron superiores al control absoluto, así como los tratamientos con las cepas C19-2, Rpd16, Rpr11 y Rpr2 favorecieron significativamente la emisión de pares de hojas en relación a los dos controles. Por el contrario, la cepa C1 presentó valores similares al testigo fertilizado. Esto último pudiera ser explicado por su principal atributo de oxidasa y gelatinasa positivo (Pérez et al., 2019), esta característica en ella la hace diferente a las otras cepas. Aunque no se cuenta con literatura abundante sobre el efecto de los rizobios en esta variable en cafet. Mazher et al. (2014) encontraron que la aplicación de varios biofertilizantes comerciales basados en rizobios y otras bacterias estimuladoras del crecimiento vegetal influyó favorablemente en el número de hojas por planta en Moringa, al compararlo con el control no inoculado.

Tabla 4. Número de hojas en cada momento de evaluación del desarrollo de injertos de café.

Tratamientos	NH			
	1 ^{ra}	2 ^{da}	3 ^{ra}	4 ^{ta}
C1	3.2 b	3.4 c	4.2 c	5.2 c
C19-2	3.2 b	4.0 b	5.8 b	6.6 b
Rpd16	3.1 b	4.4 b	5.8 b	6.8 b
Rpr11	3.4 b	4.0 b	5.4 b	6.4 b
Rpr2	4.0 a	5.6 a	6.6 a	7.0 a
Control Productivo	3.2 b	3.6 c	4.3 c	5.0 c
Control absoluto	2.4 c	2.7 d	3.6 d	4.8 d
EE	0.3	0.38	0.43	0.51

NH: Número de hojas, EE: error estándar. Medias con letras iguales no difieren significativamente para el teste Tukey a $p < 0,05$. Fuente: Resultados de la investigación.

Los resultados en las variables de crecimiento evaluadas evidencian un efecto significativo sobre el desarrollo de las plántulas de café tratadas, este comportamiento se relaciona con la respuesta a las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, informada para otros cultivares de café, al utilizar microorganismos rizosféricos en la obtención de posturas. Así pudiera citarse el uso de *Azotobacter* en clones de *C. canephora* P., *Kocuria* sp. y *Bacillus subtilis*, sobre el desarrollo de plántulas de café variedad Castillo (Cisnero et al., 2017) y *Azotobacter* y *Pseudomonas* en el cultivar de café Típica (Fernández, 2015), en los que se obtuvieron resultados favorables en la fase de vivero. De igual modo, han sido informadas respuestas positivas en diferentes cultivos como arroz y maíz al emplear rizobios obtenidos a partir de otras especies de bacterias estimulantes del crecimiento vegetal (Hernández et al., 2010; Pedraza et al., 2010).

La utilización de las cepas bacterianas identificadas como rizobios (C19-2, Rpd16, Rpr11 y Rpr2), repercutió favorablemente en el incremento de la biomasa seca, en la relación entre los órganos, así como, en los índices de esbeltez y calidad de las mismas (Tabla 5), o sea, los valores obtenidos para los indicadores superaron no solo al tratamiento control absoluto sino al control fertilizado.

Al analizar cada una de las variables, se observó que los valores mayores, se obtuvieron en el tratamiento con la cepa Rpr2 seguido del tratamiento Rpd16, con diferencia significativa entre ellos y superando el control absoluto donde se presentaron los menores valores. Dicho efecto pudiera estar dado por el papel favorable de las auxinas, en concentraciones adecuadas y de forma activa, lo que a su vez depende del nivel de síntesis y aplicación, transporte, degradación y compartimentación, e incide en la formación de pelos radicales y el número y elongación de raíces laterales, facilitando la absorción de agua y nutrientes por la planta, así como, un mayor intercambio con el medio ambiente de la rizosfera (Rahman, et al., 2012). Además, ya fue descrita la capacidad de los rizobios en estimular la formación de biopelículas sobre el rizopiano, mecanismo mediante el cual se logra mantener una estrecha relación con los exudados de las raíces de las plantas y promover un mejor desarrollo (Nogales et al., 2013).

La capacidad que tienen las posturas injertadas de café tratadas con estas cepas permitió alcanzar las mayores alturas, lo que condicionó a desarrollar mayor cantidad de hoja con la finalidad de captar más luz y así poder aumentar su área fotosintética con el objetivo de sustentar una planta con mayor tamaño. Estos resultados concuerdan con otros ensayos, en los cuales reportan que a mayor altura de planta, mayor cantidad de tejido foliar (Berilli et al., 2014).

Lo anterior se compara con trabajos realizados usando otros microorganismos, bacterias de los géneros *Azotobacter* y *Azospirillum* (Adriano et al., 2011; Suparno et al., 2015) y *Pseudomonas* (Bako et al., 2012), inoculadas en almácigos de café. En esos trabajos, se afirmó que la aplicación de esos microorganismos y sus combinaciones, como biofertilizantes, tuvo un efecto positivo en el desarrollo vegetativo del café, reflejado en altos contenidos de masa seca.

Tabla 5. Masa seca de los diferentes órganos de las plantas de café e índices estudiados durante el ensayo con Rizobios.

Tratamientos	MSA (g)	MSR (g)	MST (g)	PA/PR	IE	ICD
C1	1.46 c	0.64 d	2.1 c	1.34 d	5.49 b	0.27 a
C19-2	1.89 b	0.79 c	2.68 b	2.62 c	5.98 a	0.32 a
Rpd16	2.07 a	1.07 b	3.14 a	3.60 b	5.68 a	0.41 a
Rpr11	1.78 b	0.72 c	2.5 b	2.34 c	5.41 b	0.32 a
Rpr2	2.08 a	1.41 a	3.49 a	4.55 a	5.93 a	0.47 a
Control Productivo	1.26 c	0.57 d	1.83 c	1.32 d	5.11 b	0.25 a
Control absoluto	0.91 d	0.2 e	1.11 d	0.89 e	4.54 c	0.12 a
EE	0.09	0.06	0.21	0.23	0.38	0.08

Medias con letras iguales no difieren significativamente para el teste Tukey a $p < 0,05$. Fuente: Resultados de la investigación.

La relación de la altura con el diámetro del tallo se ha denominado índice de esbeltez y se toma como un índice que ha sido utilizado para evaluar la calidad de plántulas en diversos cultivos; según Bonilla et al. (2014), este parámetro se encuentra entre los de mayor incidencia en la calidad de la planta de *Pinus tropicalis Morelet* en la etapa inicial de su desarrollo en vivero. En nuestro trabajo este IE fue favorable y superior para a mayoría de las cepas empleada al evaluar los injertos en café (Tabla 5).

Considerando estos indicadores de manera integral, el índice de calidad de Dickson (ICD) fue el indicativo para establecer el mejor tratamiento, ya que combina los indicadores antes analizados; en este sentido, el mejor ICD estuvo dado por las posturas que crecieron con la presencia de la cepa Rpr2; el índice más bajo se presentó en las posturas sin la presencia de rizobios (Tabla 5), aunque no se manifestaron diferencias estadísticas entre todos os tratamientos para esta variable. Para este índice ICD Muñoz et al. (2014) informaron que las mejores calidades son aquellas que presentan índices de calidad más altos, ya que representan mayor equilibrio entre sus componentes. Varios resultados se han obtenido anteriormente en otras especies, mostrando que Sáenz et al., (2010) en un vivero de *Pinus strobus* encontraron índices de calidad de 0,13 hasta 0,59 y en este estudio oscilo entre 0.12 y 0.47 lo que muestra que son resultados adecuados y próximos de los relatados en la literatura.

Un índice de calidad de Dickson alto, presentan adecuada relación altura y diámetro del tallo y una buena relación parte aérea-parte radical que asegura un comportamiento en el campo con alto potencial de crecimiento radical y alta capacidad de intercambio gaseoso; de esa forma Encalada et al. (2017) señaló que una postura de cafeto que alcance un índice superior a 0,20 en la escala de Dickson estaría con las características mínimas para seguir creciendo en condiciones de campo sin contratiempos.

Por lo anteriormente expuesto esta alternativa de la inoculación de los rizobios pudiera contribuir a la obtención de material de plantación de cafeto de óptima calidad y de forma rentable, con una significativa disminución del uso de productos químicos, lo que propicia el ahorro de recursos, el mejoramiento de suelos, así como el cuidado del medio ambiente, lo que constituye una práctica factible de incluir en el manejo integrado del cultivo del cafeto. Destaque para los inoculantes C19-2,

Rpd16, Rpr11 y Rpr2 que resultaron ser los más efectivos en todas las variables evaluadas. Este aislado fue caracterizado por adherirse estrechamente a las células epidérmicas de la raíz (Hernández y Nápoles, 2017), lo que indica que pudo mantener una relación más estrecha con la superficie radical del cafeto que las otras cepas. Los resultados obtenidos muestran que es posible obtener plántulas de cafeto con adecuado vigor y calidad listas para resistir el trasplante a campo después de ser realizado el injerto y la inoculación con rizobios. Este resultado muestra que este manejo para el cultivo del café es adecuado y del punto de vista sustentable, de gran valor por la reducción que se logra con estas bacterias cuando se piensa en uso de insumos químicos para estimular el desarrollo de las posturas.

4. Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos puede arribarse a la conclusión de que las bacterias de rizobios C19-2, Rpd16, Rpr11 y Rpr2, favorecen la germinación y desarrollo de plántulas del *C. arabica* cv. Isla 5-15 injertadas sobre el patrón *C. canephora* cv. Robusta, lo que evidencia ser una alternativa para el caficultor, permitiéndole obtener plántulas más fuertes que pueden ser trasplantadas al campo de forma exitosa cuando se termina la fase de almácigo.

Estos resultados sugieren que la búsqueda y uso de otras bacterias del género rizobio pueden representar importantes alternativas de desarrollo y establecimiento de cafetales no solo en la fase de plántulas, así como también en condiciones de campo y de esa forma deben ser realizados nuevos estudios para responder estas afirmaciones.

Referencias Bibliográficas

- Adriano, M.; Jarquín, G. R.; Hernández, C.; Figueroa, M. S. y Monreal, C. T. (2011). Biofertilización de café orgánico en etapa de vivero en Chiapas, México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 2, 417-431.
- ANACAFE (2017). Evaluación de tres nematocidas y la práctica de injerto hipocotiledonar en el control de *Pratylenchus* sp. Asociación Nacional de Café. Recuperado de https://www.anacafe.org/glifos/index.php?titl e=Injerto_Reyna_Pratylenchus_SP
- Bako, J.; Wedhastrí, S. y Kurniawan A. (2012). The ability of phosphate solubilizing bacteria isolated from coffee plant rhizosphere and their effects on Robusta coffee seedlings. *J. Agric. Sci. Technol.* 2 (9), 1064-1070.
- Barbosa, D.; Vieira, H.; Rodrigues, W.; Rodrigues, J.; Barroso, D. y Silva, T. (2014). Efeito da enxertia e do nematoide *Meloidogyne exigua* sobre o crescimento radicular e a produtividade de cafeeiros. *Coffee Science*, 9 (4), 427-434.
- Berilli, S.; Quiuqui, J.; Rembinski, J.; Salla, P.; Berilli, A. y Louzada, J. (2014). Utilização de lodo de curtume como substrato alternativo para produção de mudas de café conilon. *Coffee Science*, 9 (4), 472-479.
- Bonilla, M.; Oliet, J.; Sotolongo, C. y González, E. (2014). Características morfológicas de *Pinus tropicalis* Morelet en vivero con diferentes tamaños de envases. *Revista Cubana de Ciencias Forestales*, 2 (1), 1-11.
- Canet, B. G.; Soto, V. C.; Ocampo, T. P.; Rivera, R. J.; Navarro, H. A.; Guatemala, M. G. M; Villanueva, R. S. (2016). La Situación y tendencias de la producción de café en América Latina y el Caribe. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) y Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.(CIATEJ), San José, Costa Rica, 126p.
- Cantos, G. C.; Pinargote, Ch. J.; Palma, P. R. (2018). Influencia de la fitohormona kinetina en el crecimiento de plántulas de *Coffea arabica* L. injertadas sobre patrón robusta en vivero. *Revista Cubana de Ciencias Forestales*, 6 (2), 134-145.
- Cisneros, R. C. A.; Marina, S. P. y Menjivar, F. J. C. (2017). Efecto de bacterias solubilizadoras de fosfatos sobre el desarrollo de plántulas de café. *Agron. Mesoam.* 28 (1), 149-158. Doi:10.15517/am.v28i1.22021.
- Encalada, C. M. E.; Carreño, F. S.; Morales, G. D.; Álvarez, B. I. (2017). Efecto de la luz solar y tres fechas de siembra en el desarrollo de posturas de cafeto (*Coffea arabica* L. cv. Caturra) en la Zona Sur de Ecuador. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas.
- Fernández, C. J. C. (2015). Efecto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en el cultivo de café (*Coffea arabica* L cv "Típica") en sus primeros estadios de su desarrollo. Tesis para Optar el Título Profesional de biólogo. Lima-Perú.
- González, V. M. E.; Rosales, J. P.; Castilla, V. Y.; Lacerra, E. J. Á. y Ferrer, V. M. (2015). Efecto del bioenraiz® como estimulante de la germinación y el desarrollo de plántulas de cafeto (*Coffea arabica* L.). *Cultivos Tropicales*, 36 (1), 73-79.

- Hara, F. A. dos S.; Lopes, S. K. da S.; Silva, T. S. B. da; Vendruscolo, J.; Mendes, A. M. da S.; Inácio, A. C. F.; Souza, L. C. C. de (2021). Evaluación de aislados de rizobios tolerantes a la acidez in vitro en simbiosis con frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.) en un Oxisol. *Research, Society and Development*, [S. l.], 10 (3), e12210313165. Doi:10.33448/rsd-v10i3.13165.
- Hernández, A.; Pérez, J. M.; Bosch, D. y Castro, N. (2015). Clasificación de los Suelos de Cuba. Ediciones INCA. Mayabeque, Cuba, 64p.
- Hernández, F. I. y Nápoles, G. M. C. (2017). Rizobios residentes en la rizosfera de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) cultivar INCA LP-5. *Cultivos Tropicales*, 38 (1), 39-49.
- Hernández, F. I. y Nápoles, M. C. (2019). Rhizobia Promote Rice (*Oryza sativa* L.) Growth: First Evidence in Cuba. In: González F, Zúñiga D, Ormeño E. editors. *Microbial Probiotics for Agricultural Systems: Advances in agronomics use*. Springer Nature Switzerland AG. Doi:10.1007/978-3-030-17597-9_10.
- Hernández, R.; Heydrich, P. A.; Diallo, B. M.; Mondher, E. J. y Vandeputte, O. M. (2010). Cell-free culture medium of *Burkholderia cepacia* improves seed germination and seedling growth in maize (*Zea mays*) and rice (*Oryza sativa*). *Plant Growth Regul.*, 60 (3), 191-197. Doi:10.1007/s10725-009-9433-5.
- Julca, O. A.; Andía, A. E.; Estelita, C. S. y Borjas, V. R. (2018). Comportamiento de *Coffea arabica* L. injertadas sobre *Coffea canephora* en presencia de nematodos en vivero. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 20 (3), 267-280. Doi:10.18271/ria.2018.391.
- Khalajabadi, S. S. y González, O. H. (2014). Respuesta de almácigos de café a diferentes fuentes y dosis de nitrógeno. *Avances técnicos de Cenicafé*, 4p.
- Leveau, J. H. J. y Lindow, S. E. (2005). Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290⁺. *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (5), 2365-2371. Doi:10.1128/AEM.71.5.2365-2371.2005.
- Martins, L. D.; Tomaz, M. A.; Teixeira, J. F.; Braganca, S. M.; Nunes, W. y Fialho, E. (2013). Nutritional efficiency in clones of conilon coffee for phosphorus. *J. Agric. Sci.*, 5, 130-140.
- Mazher, A.; Abdel, A. N.; El-Dabh, R. S.; El-Khateeb, M. A. y Abd El-Badaie, A. A. (2014.) Effect of biofertilization on growth and constituents of *Moringa oleifera* Lam. *Plants. Middle East Journal of Agriculture Research*, 3 (4), 793-798.
- Muñoz, H.; Sáenz, J.; Coria, V.; García, J.; Hernández, J. y Manzanilla, G. (2014). Calidad de planta en el vivero forestal La Dieta, Municipio Zitácuaro, Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 6 (27), 72-89.
- Nogales, J.; Pérez, M. D.; Gallegos, M. T. y Soto, M. J. (2013). Importance of Motile and Biofilm Lifestyles of Rhizobia for the Establishment of Symbiosis with Legumes. En: Rodelas, G. M. B. y Gonzalez-López, J. (org.). *Beneficial plant-microbial interactions: ecology and applications*, Ed. CRC Press, Boca Raton, FL, 47-55.
- OIC (2019). Informe sobre desarrollo cafetero de 2019. Crecer para prosperar: viabilidad económica como catalizador de un sector cafetero sostenible. Organización Internacional del Café. Disponible en: <http://www.ico.org/documents/cy2019-20/ed-2320c-coffee-development-report.pdf>.
- Pedraza, R.; Teixeira, O.; Fernández, K.; Scavino, A.; García, de S. I.; Baca, B. E.; Azcón, R.; Baldani, O. y Bonilla, R. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 11 (2), 155-164.
- Pereira, A. S.; Shitsuka, D. M.; Parreira, F. J. y Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Recuperado de https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_MetodologiaPesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.
- Pérez, P. R.; Oudot, M.; Serrano, L.; Hernández, I.; Nápoles, M. C.; Sosa, D. y Pérez, M. S. (2019). Rhizospheric rhizobia identification in maize (*Zea mays* L.) plants. *Agronomía Colombiana*, 37 (3), 255-262. doi:10.15446/agron.colomb.v37n3.80189.
- Priya, M.; Kumutha, K. y Senthilkumar, M. (2019). Impact of Bacterization of *Rhizobium* and *Methylobacterium radiotolerans* on Germination and Survivability in Groundnut. Seed. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8 (08), 394-405. doi:10.20546/ijemas.2019.808.045.
- Quintana, E. A. O.; Iracheta, D. L.; Méndez, L. I.; Moisés, A. B. (2017). Caracterización de genotipos elite de *Coffea canephora* por su tolerancia a la sequía. *Agron. Mesoam*, 28 (1), 183-198. doi:10.15517/am.v28i1.23874.
- Rahman, A.; Hosokawa, S.; Oono, Y.; Amakawa, T.; Goto, N. y Tsurumi, S. (2012). Auxin and ethylene response interactions during *Arabidopsis* root hair development. *Plant Physiol.*, 130 (4), 1908-1917.
- Ramajo, D. J. L.; Guevara, Y. A.; Navarro, O. D.; Leyva, L. A.; Verdecia, G. M. J. y González, V. R. (2013). Resultados de la unidad de interfase de Comeará con la implementación del sistema de extensión agraria. *Café y cacao*, 1 (2), 63-67.
- Ruiz, S. (2013). Influencia de microorganismos sobre características fisicoquímicas de los suelos de cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), en tingo maria". *Revista Investigación y Amazonía*, 2 (12), 67-74.
- Sáenz, T.; Villaseñor, F.; Muñoz, J.; Rueda, A. y Prieto, J. (2010). Calidad de planta en viveros forestales de clima templado en Michoacán. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Pacífico. Centro Campo Experimental Uruapan. Folleto Técnico no. 17, 52p.
- Sánchez, J. K.; Cabrera, P. R. y Jiménez, D. J. (2019). Inducción de embriogénesis somática a partir de explantes foliares en tres variedades de café. *Scientia Agropecuaria*, 10 (2), 259-264. Doi:10.17268/sci.agropecu.2019.02.11.
- Santos, A.; Rocha, R.; Fernandes, C.; Silveira, S.; Ramalho, A. y Vieira, J. (2017). Reaction of *Coffea canephora* clones to the root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *African Journal of Agricultural Research*, 12 (11), 916- 922.
- Spaepen, S. y Vanderleyden, J. (2011.) Auxin and Plant-Microbe Interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3 (4), a001438. Doi:10.1101/cshperspect.a001438.PMID:21084388.

Suparno, A.; Prabawardani, S.; Yahya, S. y Taroreh, N. A. (2015). Inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi increase the growth of cocoa and coffee seedling applied with Ayamuru Phosphate Rock. *J. Agric. Sci.* 7, 199-210.

Vincent, J. M. (1970). A manual for the practical study of root-nodule bacteria. (ser. IBP Handbook, no. ser. 15), Ed. International Biological Programme, 1970, Oxford, 164p.