



TESIS

CON EL TEMA:

“Evaluación de cepas de Trichoderma sp como control biológico de roya (*Hemileia vastatrix*) en vitroplantas de café”

QUE PRESENTAN:

**ERNESTO GARCIA ARANDA
ANAHI GARCIA MORENO
EDUARDO GUZMAN ROSALES**

ASESORA:

DRA. MAYRA ITZCALOTZIN MONTERO CORTES

REVISORES:

**DR. BENJAMIN HERNANDEZ MARQUEZ
DR. JOAQUIN ALEJANDRO QUI ZAPATA**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIEROS EN AGRONOMÍA**

Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, **02/Febrero/2024**

No. DE OFICIO: D.SA/264/2024
ASUNTO: Autorización de impresión
definitiva y digitalización.

C. ERNESTO GARCIA ARANDA
C. ANAHI GARCIA MORENO
C. EDUARDO GUZMAN ROSALES
PASANTES DE LA CARRERA DE INGENIERIA EN AGRONOMIA
P R E S E N T E

Dado que el Comité dictaminó como **APROBADA** su TITULACIÓN INTEGRAL: OPCIÓN I (TESIS), con el tema **"Evaluación de cepas de Trichoderma sp como control biológico de roya (Hemileia vastatrix) en vitro plantas de café"** y determinó que dan cumplimiento con los requisitos establecidos, se les notifica que tienen la autorización para su impresión definitiva y digitalización.

Sin otro particular, quedo de usted.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
Educando para la Sociedad Actual y los Retos del Futuro

**INSTITUTO TECNOLÓGICO
DE TLAJOMULCO**
DIRECCION

C. MARÍA ISABEL BECERRA RODRÍGUEZ
DIRECTORA DEL PLANTEL

C.c.p.- Coordinación de Apoyo a la Titulación. - Edificio
C.c.p.- Minutario. -

MIBR/**MIB**/VHPS/mjhc
VP



Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, **01/Febrero/2023**

No. DE OFICIO: D.SA/DCA/103/2023
ASUNTO: Liberación de proyecto para la titulación integral.

ICE. ANA LUISA GARCIA CORRALEJO
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
P R E S E N T E

Por este medio informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la titulación integral:

NOMBRE DEL ESTUDIANTE Y/O EGRESADO:	ERNESTO GARCIA ARANDO
NO. DE CONTROL:	19940024
PRODUCTO:	OPCIÓN I (TESIS)
CARRERA:	INGENIERÍA EN AGRONOMIA
NOMBRE DEL PROYECTO:	"Evaluación de cepas de Trichoderma sp como control biológico de roya (<i>Hemileia vastatrix</i>) en vitroplantas de café"

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Educando para la Sociedad Actual y los Retos del Futuro



Miguel Hernandez Flores
ING. MIGUEL HERNANDEZ FLORES
RESPONSABLE DEL DEPARTAMENTO
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

<i>Mayra Itzcalotzin Montero Cortes</i> DRA. MAYRA ITZCALOTZIN MONTERO CORTES Nombre y firma del asesor	<i>Benjamin Hernandez Marquez</i> DR. BENJAMIN HERNANDEZ MARQUEZ Nombre y firma del revisor	<i>Joquin Alejandro Qui Zapata</i> DR. JOAQUIN ALEJANDRO QUI ZAPATA Nombre y firma del revisor
--	--	---

C.c.p.- Expediente.
PYC/mjhc*



Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, 01/Febrero/2023

No. DE OFICIO: D.SA/DCA/105/2023
ASUNTO: Liberación de proyecto para la titulación integral.

ICE. ANA LUISA GARCIA CORRALEJO
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
PRESENTE

Por este medio informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la titulación integral:

Table with 2 columns: Field Name and Value. Fields include: NOMBRE DEL ESTUDIANTE Y/O EGRESADO: ANAHI GARCIA MORENO; NO. DE CONTROL: C12290458; PRODUCTO: OPCIÓN I (TESIS); CARRERA: INGENIERÍA EN AGRONOMIA; NOMBRE DEL PROYECTO: "Evaluación de cepas de Trichoderma sp como control biológico de roya (Hemileia vastatrix) en vitroplantas de cafe"

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Educar para la Sociedad Actual y los Retos del Futuro

Handwritten signature of Miguel Hernandez Flores
ING. MIGUEL HERNANDEZ FLORES
RESPONSABLE DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



Table with 3 columns for signatures and names of advisors and reviewers. Column 1: DRA. MAYRA ITZCALOTZIN MONTERO CORTES; Column 2: DR. BENJAMIN HERNANDEZ MARQUEZ; Column 3: DR. JOAQUIN ALEJANDRO QUI ZAPATA

C.c.p.- Expediente.
PYC/mjhc*



Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, **01/Febrero/2023**

No. DE OFICIO: D.SA/DCA/104/2023
ASUNTO: Liberación de proyecto para la titulación integral.

ICE. ANA LUISA GARCIA CORRALEJO
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
P R E S E N T E

Por este medio informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la titulación integral:

NOMBRE DEL ESTUDIANTE Y/O EGRESADO:	EDUARDO GUZMAN ROSALES
NO. DE CONTROL:	18940149
PRODUCTO:	OPCIÓN I (TESIS)
CARRERA:	INGENIERÍA EN AGRONOMIA
NOMBRE DEL PROYECTO:	"Evaluación de cepas de Trichoderma sp como control biológico de roya (<i>Hemileia vastatrix</i>) en vitroplantas de café"

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Educar para la Sociedad Actual y los Retos del Futuro

Miguel Flores
ING. MIGUEL HERNANDEZ FLORES
RESPONSABLE DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



<i>Mayra Itzcalotzin</i> DRA. MAYRA ITZCALOTZIN MONTERO CORTES Nombre y firma del asesor	<i>Benjamin Hernandez</i> DR. BENJAMIN HERNANDEZ MARQUEZ Nombre y firma del revisor	<i>Joaquin Alejandro Qui</i> DR. JOAQUIN ALEJANDRO QUI ZAPATA Nombre y firma del revisor
---	--	---

C.c.p.- Expediente,
PYC/mjhc*



AGRADECIMIENTO

Al Instituto Tecnológico de Tlajomulco por habernos permitido desarrollar parte del proyecto en las instalaciones, a la Ing. Julia Cardoso la cual fue una clave importante para la realización de este proyecto.

Estamos agradecidos con nuestra asesora la Dra. Mayra I. por su enseñanza, dedicación, seguimiento y sobre todo comprensión en situaciones difíciles presentadas durante el proyecto.

A la maestra Fabiola Bejarano Rebolledo por su apoyo y seguimiento.

A nuestros revisores de tesis al Dr. Joaquín A. Qui Zapata, y al Dr. Benjamín Hernández Marquez, así como a mis maestros de cátedra, que fueron un pilar fundamental para desarrollo Técnico y profesional.

Anahí García:

A mi esposo Osbaldo Ramos que me apoyaba constantemente en mis dudas, a mi madre Ma. Del Carmen Moreno, ambos fueron una pieza crucial para alcanzar cada uno de mis objetivos y no darme por vencida en los momentos difíciles. A mis hijas Aitana Ramos y Anarlette Ramos que fueron parte importante de mi motivación, ya que el amor del hogar es lo que da la fuerza para seguir y cumplir lo que nos proponemos.

Ernesto García:

Agradecimiento a mi esposa e hijos por todo su apoyo incondicional, a mi mamá y hermanos por siempre impulsarme a terminar mi carrera.

A mi jefa Ing. Gabriela López por darme la oportunidad de ausentarme los sábados para continuar con mis estudios, a mis compañeros de trabajo por todo su apoyo brindado.

A mis amigos que siempre estuvieron apoyándome, a mis compañeros de residencias por el acompañamiento en esta etapa.

Eduardo Guzmán:

Agradecimiento al profesor Gumerindo Vazquez Aceves quien fue pieza clave para la culminación de mi proyecto educativo, el cual siempre estuvo dispuesto y atento a mi desarrollo.

A mi hija Alejandra Guzmán que fue el motor de mi vida y fue la que me dio esta gran motivación para ser un buen ingeniero y que me ha motivado a ser una mejor persona desde el día en que llego a mi vida.

Permitirme agradecer al personal académico y administrativo del tecnológico el cual me apoyaron en cada uno de los trámites correspondientes y que ellos estuvieron al tanto y resolvieron cada uno de las dudas a lo largo de la carrera.

A mi familia y mis hermanos, por el apoyo aportado ya que cada uno de ellos, tuvieron que realizar actividades extras a las asignadas, para que yo pudiera ausentarme los días de estudios.

A la señora Raquel Rosales y al señor Francisco Guzmán por darme la oportunidad de poder asistir los sábados al instituto y que de no ser por ellos este proyecto de vida y personal no se hubiera podido lograr.

INDICE

AGRADECIMIENTO	6
RESUMEN	11
I INTRODUCCION	15
II ANTECEDENTES	16
2.1 Importancia del Café	16
2.2 Características taxonómicas del café	16
2.3 Propagación del cultivo del café	17
2.3.1 Propagación asexual.....	17
2.3.2 Propagación in vitro	18
2.5 Enfermedades del cultivo.....	21
2.6 Características del género de Roya (<i>Hemileia vastatrix</i>).....	25
2.8 Ciclo de infección de la roya	27
2.9 Control de la Roya	28
2.9.3 Control biológico de la Roya	29
2.10 Trichoderma	34
2.11 Planteamiento del problema.	36
2.12 Justificación	38
III Objetivos	40
3.1 General.....	40
3.2 Específicos	40
IV Hipótesis.....	41
V MATERIALES Y METODOS	42
5.1 Experimentos en condiciones <i>in vitro</i>	42
5.1.1 Protocolo de desinfección de semillas de café	42
5.1.2 Preparación de Medio de Cultivo para la germinación.....	42
5.2 Experimento del efecto de diferentes longitudes de onda de luz visible en la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de café	42
5.3 Experimento del efecto de filtrados de <i>Trichoderma sp</i> en la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de café	43
5.3.1 Obtención del filtrado del cultivo de hongos (FDT).	43
5.3.2 Aplicación de filtrados (FDT) de <i>Trichoderma sp.</i> en semillas de café en condiciones <i>ex vitro</i> ...	43
5.5 Inoculación de la roya (<i>Hemileia vastatrix</i>) a diferentes concentraciones.....	45
VI RESULTADOS	48
6.1 Efecto de diferentes longitudes de onda de luz visible en la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de café	48
6.1.1 Índice de velocidad de germinación (IVG).....	49

6.1.2 Desarrollo de plántulas de café.....	50
6.2 Porcentaje de germinación de semillas de café sometidas a filtrados de <i>Trichoderma sp.</i>	52
En la tabla se representan las medias con su desviación estándar, las diferentes letras entre columnas indican diferencias significativas con la prueba LSD ($P < 0.05$).....	53
6.2.1 Desarrollo de plantas de café tratadas con filtrado de <i>Trichodermas sp.</i>	53
6.2.2 Peso fresco y seco.	55
6.3 Infección de roya en plantas de café en condiciones <i>in vitro.</i>	56
VII Conclusiones.....	59
VIII Referencias bibliograficas	60

INDICE DE TABLAS

TABLA 1 CLAVE DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	10
TABLA 2 ACCIONES Y EFECTO DE LA LUZ EN DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA	21
TABLA 3 PRINCIPALES BACTERIAS USADAS CON EFECTO FUNGICIDA COMO CONTROL BIOLÓGICO EN ROYA DEL CAFÉ.....	30
TABLA 4 PRINCIPALES HONGOS USADOS CON EFECTO FUNGICIDA COMO CONTROL BIOLÓGICO EN ROYA DEL CAFÉ.....	31
TABLA 5 METABOLITOS NATURALES CON ACTIVIDAD FUNGICIDA CONTRA LA ROYA DEL CAFÉ.....	33
TABLA 6 ÍNDICE DE VELOCIDAD DE GERMINACIÓN.....	50
TABLA 7 DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE CAFÉ BAJO CONDICIONES DE CALIDADES DE LUZ VISIBLE	51
TABLA 8 PORCENTAJE DE GERMINACIÓN DE SEMILLA DE CAFÉ EN FILTRADOS DE <i>TRICHODERMA SP</i> (PORCENTAJE DE GERMINACIÓN HASTA AL DÍA 42	53
TABLA 9 DESARROLLO DE PLÁNTULAS CON EL FILTRADO DE <i>TRICHODERMA SP.</i>	55
TABLA 10 PESO FRESCO Y SECO DE PLÁNTULAS DE FILTRADO DE <i>TRICHODERMA SP.</i>	56
TABLA 11 INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD (ROYA) EN PLANTA DE CAFÉ EN CONDICIONES <i>IN VITRO</i>	57
TABLA 12. INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD DE ROYA EN PLANTAS DE CAFETO A LOS 90 DÍAS.....	58

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 ESPECTRO DE LUZ VISIBLE.	20
FIGURA 2 CICLO DE INFECCIÓN DE LA ROYA	28
FIGURA 3 PORCENTAJE DE GERMINACIÓN EN DIFERENTES CALIDADES DE LUZ VISIBLE, AL DÍA 90	49
FIGURA 4 EFECTOS DE LA CALIDAD DE LUCES EN EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE CAFÉ EN CONDICIONES IN VITRO A LOS 90 DÍAS DE CULTIVO.....	52
FIGURA 5 PROTECCIÓN DE CEPAS DE <i>TRICHODERMA SP</i> CONTRA LA ROYA DEL CAFÉ.....	58

Tabla 1 Clave de Símbolos y Abreviaturas

ABREVIATURA	TÉRMINO
°C	Grados Celsius
Km, m, cm, mm	Kilómetro, metro, centímetro, milímetro
Ph	Potencial hidrogeno
μmol m⁻² s⁻¹	Unidad radiación fotosintética activa
mgL⁻¹, gL⁻¹.	Miligramo por litro, gramo por litro
s, min, hrs.	Segundo, minuto, horas.
MS	Medio de cultivo Murashige y Skoog
Gelrite®	Agente gelificante
BAP	6-Bencilaminopurina
AIB	Ácido indol butírico
ANA	Ácido 1-naftalenacético
IAA	Ácido indolacético.
2,4-D	Ácido 2,4-diclorofenoxiacético
TDZ	Tidiazurón.
GA₃	Ácido giberélico
ABA	Ácido abscísico
SIT	Sistema de inmersión temporal
RITA®	Recipiente de inmersión temporal automatizado
BIOMINT®	Agitador orbital
SETIS™	Recipiente de inmersión temporal
Benomilo	Fungicida sistémico agrícola
PPM™	Mezcla de conservación de plantas
Tween 20	Polisorbato 20
PVP	Polivinilpirrolidona
ANOVA	Análisis de varianza
±	Mas menos
SD	Desviación Estándar
p/v	Peso por volumen de solución
CONABIO	Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad
SEMARNAT	Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales
sp. spp.	Especie - especies

RESUMEN

En los últimos años, tanto en México como a nivel mundial, la producción de café ha enfrentado diversos desafíos derivados de plagas y enfermedades que han incidido negativamente en la calidad y rendimiento del cultivo. Entre estas amenazas, destaca una enfermedad ocasionada por el hongo *Hemilellia Vastatrix*, cuyos efectos se concentran principalmente en las hojas del café. Esta patología ha alcanzado niveles preocupantes, manifestándose en infecciones graves que conducen a una marcada defoliación de las plantas, exacerbando los desafíos ya existentes en la industria cafetalera.

Esta investigación tiene como objetivo principal, el control biológico, con el uso de diferentes filtrados de *Trichoderma sp* al combatir la roya de café causada por el hongo *Hemilellia Vastatrix*.

Durante el desarrollo de la investigación, se focalizó principalmente en la propagación del cultivo mediante técnicas in vitro, abordando tanto la germinación como el desarrollo de las plantas en un medio filtrado con *Trichoderma sp*. Asimismo, se exploró el impacto de distintas calidades de luz visible en este proceso. Posteriormente, se extendió la investigación al ámbito ex vitro, examinando la germinación y desarrollo de las plantas a través de un filtrado de *Trichoderma sp*.

En una etapa subsiguiente, se dirigió la atención hacia el estudio de la infección de la roya del café en plantas cultivadas in vitro, profundizando en los mecanismos y manifestaciones de esta patología en condiciones controladas. Al llevar a cabo los experimentos previamente mencionados, se obtuvieron resultados significativos en el estudio de la calidad de luz visible. En el tratamiento T4 (luz morada) y el tratamiento T0 (luz blanca), se observó que ambos exhibieron un porcentaje de germinación idéntico, alcanzando un valor del 96.67%. En lo que respecta al desarrollo de las plántulas, el tratamiento T2 (luz roja) destacó al registrar el mayor porcentaje de hojas. Este hallazgo sugiere que un mayor número de hojas está asociado con un desarrollo más robusto, indicando un óptimo funcionamiento de las rutas metabólicas en las plantas bajo este tratamiento.

Respecto al experimento de infección de roya en plántulas in vitro, se observó que los tratamientos expuestos a una concentración más baja (1×10^2) y cultivados en un sustrato específico registraron una incidencia menor de la enfermedad provocada por *Hemileia Vastatrix*.

Finalmente, en el último capítulo se buscó un protocolo el cual revisando la literatura de las condiciones óptimas para obtener inóculo de la roya de café en condiciones controladas y estableciendo nuevas metodologías, se pudo lograr inducir resistencia a las plantas de café mediante la aplicación de *Trichoderma sp.*

ABSTRACT

In recent years, both in Mexico and worldwide, coffee production has faced various challenges derived from pests and diseases that have negatively affected the quality and yield of the crop. Among these threats, a disease caused by the fungus *Hemilellia Vastatrix* stands out, whose effects are concentrated mainly on coffee leaves. This pathology has reached worrying levels, manifesting itself in serious infections that lead to marked defoliation of plants, exacerbating the challenges already existing in the coffee industry.

The main objective of this research is biological control, with the use of different *Trichoderma sp* filtrates when combating coffee rust caused by the fungus *Hemilellia Vastatrix*.

During the development of the research, the main focus was on the propagation of the culture using in vitro techniques, addressing both the germination and development of the plants in a medium filtered with *Trichoderma sp*. Likewise, the impact of different qualities of visible light on this process was explored. Subsequently, the research was extended to the ex vitro field, examining the germination and development of plants through a filtrate of *Trichoderma sp*.

In a subsequent stage, attention was directed towards the study of coffee rust infection in plants grown in vitro, delving into the mechanisms and manifestations of this pathology under controlled conditions. By carrying out the previously mentioned experiments, significant results were obtained in the study of the quality of visible light. In treatment T4 (purple light) and treatment T0 (white light), it was observed that both exhibited an identical germination percentage, reaching a value of 96.67%. Regarding the development of seedlings, treatment T2 (red light) stood out by registering the highest percentage of leaves. This finding suggests that a greater number of leaves is associated with more robust development, indicating optimal functioning of metabolic pathways in plants under this treatment.

Regarding the rust infection experiment in in vitro seedlings, it was observed that treatments exposed to a lower concentration (1×10^2) and grown in a specific substrate recorded a lower incidence of the disease caused by *Hemileia Vastatrix*.

Finally, in the last chapter, a protocol was sought which, by reviewing the literature of the optimal conditions to obtain coffee rust inoculum under controlled conditions and establishing new methodologies, was able to induce resistance to coffee plants through the application of *Trichoderma sp.*

I INTRODUCCION

En México se producen café de excelente calidad, lo que coloca a nuestra nación como la 11va en producción mundial.

Se cree que el café tiene sus orígenes en Etiopía, África, para después expandirse en todo el mundo, Los primeros establecimientos en servir café se abrieron en la Meca y se llamaban “kaveh kanes”. Nuestro país es un lugar ideal para su cultivo debido a su altura, climas y suelos, lo cual le permite cultivar variedades clasificadas dentro de las mejores del mundo.

El café es uno de los productos primarios más valiosos, pues su cultivo, procesamiento, comercio, transporte y comercialización proporciona empleo a millones de personas en todo el mundo. El café tiene una importancia crucial para la economía y la política de muchos países en desarrollo.

En México, el café es un cultivo estratégico; su producción emplea a más de 500 mil productores de 15 entidades federativas y 480 municipios. La producción mexicana de café cereza fue en promedio de 899 mil toneladas en el periodo 2017-2021; Chiapas es el principal estado productor, aporta el 41 por ciento del volumen nacional, seguido por Veracruz (24 por ciento) y Puebla (15.3 por ciento).

El café seguirá siendo un producto de suma importancia cultivado en nuestro país, razón por la cual se llevan a cabo diferentes acciones que apoyan su cultivo y producción. Hasta el 15 de septiembre de 2021, el programa prioritario Producción para el Bienestar entregó apoyos directos por mil 363 millones 163 mil pesos a 219 mil 865 productores de café, quienes cuentan con una superficie total de 269 mil 99 hectáreas.

II ANTECEDENTES

2.1 Importancia del Café

Nuestro país es considerado como uno de los mejores tipográficamente hablando para el cultivo de café arábico, y es que las regiones tropicales del país poseen buena altura y excelentes condiciones climáticas, así como enriquecidos suelos de cultivo que lo hacen el lugar idóneo para la producción de café orgánico de la más alta calidad.

Gracias a la demanda que posee el café mexicano es posible emplear a más de 500 mil productores de café ubicados dentro de 15 estados en 480 municipios, con lo que se destina un 3.24% del total del suelo de cultivo específicamente para esta variedad de café. Oaxaca es uno de los 15 estados encargados de las producciones café en México, ocupando el cuarto puesto después de Chiapas que aporta un 41% del consumo total del país, seguido de Veracruz con un 24% y Puebla con un 15%. Hoy en día la producción de café en México logra vender más de 4 millones de sacos de café de 60Kg cada uno anualmente. Se prevé que según el crecimiento anual que ha tenido la producción de café en los últimos años, para el 2030 se logrará producir más de 15 millones de sacos de café orgánico de cultivo sustentable de manera exitosa. (De Agricultura Y Desarrollo Rural, s. f.)

2.2 Características taxonómicas del café

Dominio: Eukaryota

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida (=Dicotyledoneae)

Orden: Gentianales

Familia: Rubiaceae

Género: Coffea

Especie: Arabica

2.3 Propagación del cultivo del café

El arbusto de café puede propagarse por métodos sexuales o asexuales. El primer método incluye el uso de la semilla en grano y el segundo la utilización de material vegetativo de la planta como estacas, esquejes o injertos. También puede propagarse por medio de herramientas biotecnológicas con el uso de cultivo de tejidos (microesquejes entre otros).

La especie *Coffea arabica* normalmente se propagan por semillas ya que la fecundación de la flor ocurre por autopolinización y se mantienen las características de la variedad sobre el 90%. En el caso de las especies *Coffea canephora* y el *Coffea liberica* la polinización es cruzada lo que implica una alta variabilidad en el tipo y en la producción de las plantas obtenidas por semilla. Si se desea obtener plantas fieles a la variedad se hace necesario propagarlas por métodos asexuales.

El método sexual ha sido el tradicionalmente usado para propagar el cafeto, este tiene sus limitaciones en términos de la baja capacidad de multiplicación, la necesidad de grandes extensiones del cultivo para obtener semillas y el largo período de tiempo que se requiere para la propagación masiva de una nueva variedad. En la actualidad han desarrollado otros métodos como el cultivo de tejidos que permiten producir una gran cantidad de plantas, en cualquier época del año, a partir de fragmentos de hojas. Este método (“in vitro”) permite producir un mayor volumen de cafetos más rápidamente. (*MANUAL PARA LA PROPAGACIÓN DEL CAFETO EN PUERTO RICO*, 2018).

2.3.1 Propagación asexual

El esqueje es un tipo de propagación asexual, que consiste en separar de la planta madre una porción de tallo, raíz u hoja que posteriormente se coloca en determinadas condiciones que inducen la formación de raíces, obteniéndose una nueva planta idéntica a la planta madre. La multiplicación por esquejes consiste en originar una planta completa a partir de un pequeño trozo de tallo, hoja o una raíz de una planta original habitualmente son trozos de tallo verde, que se utilizan con

más frecuencia para reproducir plantas de interior (Margarita, 2015). La propagación asexual ofrece la capacidad de clonar plantas, asegurando que las nuevas generaciones sean genéticamente idénticas a la planta madre. Este proceso resulta particularmente beneficioso para la preservación de características deseables, tales como la calidad del grano, la resistencia a enfermedades y otros rasgos agronómicos específicos. Además, fomenta la uniformidad en el cultivo, ya que todas las plantas comparten de manera precisa las mismas características genéticas. Esta uniformidad simplifica la gestión de la plantación y permite un manejo más eficiente de los recursos disponibles.

La técnica de reproducción asexual ofrece notables ventajas, siendo una opción altamente beneficiosa debido a su elevado coeficiente de multiplicación. La obtención de material de reproducción, como microesquejes, de dimensiones reducidas facilita el transporte a largas distancias y disminuye significativamente los costos asociados. Además, esta metodología presenta otras ventajas significativas, como su simplicidad, practicidad y rentabilidad, convirtiéndola en una forma eficiente y económica de generar un considerable número de plantas. Esto resulta especialmente valioso para el establecimiento de futuras plantaciones, ya que permite producir una cantidad sustancial de plantas en un espacio relativamente pequeño.

Al utilizar plantas clonadas que han demostrado ser productivas y de alta calidad, los productores pueden mejorar la producción y el rendimiento de sus cultivos.

En resumen, la propagación asexual del café presenta varias ventajas que van desde la conservación de características genéticas deseables hasta la eficiencia en la multiplicación y el control de la calidad del cultivo. Estas ventajas hacen de la propagación asexual una práctica común y valiosa en la industria cafetera.

2.3.2 Propagación in vitro

El cultivo in vitro de plantas significa cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente controlado. Esta forma de cultivar las plantas tiene dos características fundamentales: la asepsia (ausencia de gérmenes, etc.), y el control de los factores que afectan el crecimiento. El avance alcanzado por las ciencias biológicas ha

permitido en los últimos años el estudio detallado de las plantas tanto a nivel celular como molecular, y en condiciones de laboratorio es posible actualmente reproducir todos los factores que puedan incidir en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Este principio general se aplica también al cultivo in vitro de plantas (*capítulo 27 Propagación in vitro del café*, s. f.).

2.4 Luminosidad

Para el estudio del efecto de la luz en la germinación y crecimiento de las plantas es necesario conocer algunos conceptos que explican cómo es esta interacción por lo que a continuación se describen algunos de ellos. La energía proveniente del sol se propaga en el espacio en forma de onda electromagnética o radiación electromagnética (unidad Joule), la distancia entre dos crestas sucesivas es llamada de longitud de onda (λ) y el número de veces que crestas contiguas pasan por un dado punto es la frecuencia (ν). La distribución de la radiación electromagnética en función de las respectivas longitudes de onda (nanómetros) o frecuencias, se denomina espectro electromagnético, el cual se divide en regiones que van desde radiaciones gama ($\lambda \sim 10^{-3}\text{nm}$), hasta ondas de radio ($\lambda > 10^9\text{nm}$) pasando por el espectro visible. Este último comprende la parte de radiación que el ser humano consigue ver, situado aproximadamente entre las longitudes de onda 380 nm correspondiente al violeta y 770 nm al rojo lejano. La mayor parte de la radiación ultravioleta (UV) e infrarroja (IR) es absorbida en la atmósfera por sus gases, el UV por el ozono (O_3) en la estratosfera y el IR por el vapor de agua y CO_2 . De esta forma, la radiación solar que alcanza la biosfera presenta una mayor proporción de radiación visible que en la región superior de la atmósfera. De todo el espectro visible, las plantas utilizan para la fotosíntesis solo una región comprendida entre 400 hasta 700 nm, la cual es denominada radiación fotosintéticamente activa o de crecimiento (RFA) (ver figura 1). Esto ocurre debido a que los seres vivos evolucionaron en relación a sistemas fotoquímicos capaces de utilizar estas longitudes de onda. El efecto que estas ejercen sobre la planta varía dependiendo de la hora del día y fase de crecimiento, afectando propiedades como el aspecto, momento de floración o valores farmacéuticos y nutricionales.



Figura 1 Espectro de luz visible.

La germinación de semillas es una fase importante en el desarrollo de una planta, cada especie necesita un rango específico de factores ambientales tales como, luz, temperatura, humedad y pH, para que esta ocurra. La cantidad de luz (tiempo de exposición a la densidad de flujo de fotones fotosintéticos), así como la calidad (en especial la relación de longitud de onda del rojo-rojo lejano), son factores que intervienen en diversos procesos fisiológicos y se consideran esenciales para el establecimiento y desarrollo de la semilla. La germinación, así como el desarrollo y la floración de la planta, están regulados por tres fotorreceptores que perciben longitudes de onda diferentes, fitocromo, criptocromo y fotorreceptores en ultravioleta-B (ver tabla 2). El primero, es un fotorreceptor que media los efectos de la luz roja e infrarroja, para esto, absorbe primariamente en el espectro lumínico rojo de 600 a 800 nm (forma Pr), siendo convertido para absorber en la longitud del rojo lejano entre 700-1000 nm (forma Pfr), esta interconversión depende de la proporción de luz roja respecto a la roja lejana. Diversos estudios mostraron que la radiación roja promueve la germinación, además de la fotomorfogénesis (replicación de plastidios y síntesis de clorofila y antocianos), formación de primordios foliares y florales y el crecimiento. Existen dos tipos de fitocromos, tipo I: predominante en plantas etioladas y tipo II: más estable a la luz y abundante en todas las plantas verdes, esta presencia indica que las longitudes de onda entregan información importante que ayuda a la planta en su adaptación al entorno El criptocromo

absorbe principalmente en la longitud de onda del azul y ultravioleta- A, donde se han identificado dos tipos (CRYI y CRYII). La luz azul se relaciona con la morfogénesis de la planta y diferenciación de órganos, en su presencia se inhibe la elongación del tallo, participa de la síntesis y acumulación de clorofila y regula la apertura de estomato y el crecimiento celular, lo cual permite crecer en función o dirección de la fuente luz (fototropismo). Los fotorreceptores en ultravioleta-B, se relacionan a respuestas fotométricas que modifican la composición química, la competencia fotosintética, morfogénesis y defensa.

Tabla 2 Acciones y efecto de la luz en diferentes longitudes de onda

	λ (nm)	Acciones y efectos	Tipo de fotorreceptor y otras moléculas que absorben la energía lumínica
UV-C	<280	Mutaciones, daño u muerte celular	DNA-RNA
UV-B/UV-A	315-400	Acción fotomorfológica; síntesis de pigmentos; daño y muerte celular,	Criptocromos (ζ ?), Fotorreceptores UV
Violeta-Azul	400-510	Acción fotosintética, fotomorfogénesis, ritmo circadiano, tiempo de floración, fototropismo, movimiento de cloroplastos, apertura de estomas, estimulación del síntesis de clorofila y carotenos	Fotosistemas (clorofilas a y b), Criptocromos , Fototropinas
Verde-Amarillo	510-610	Acción reducida sobre la fotosíntesis	Carotenos
Anaranjado-Rojo/Rojo lejano	610-1000	Acción fotosintética, germinación de semillas, tiempo de floración, ritmo circadiano, fotomorfogénesis, elongación celular	Fotosistemas, (Clorofilas a y b), Fotocromos
Infrarrojo	>1000	Efectos mínimos, poco estudiados	ζ ?

2.5 Enfermedades del cultivo

La exigencia en la calidad del café es cada vez mayor y para que un grano desarrolle sus atributos aromáticos y de sabor debe provenir de una planta sana. Por ello es importante detectar las enfermedades que afectan al cafeto, las cuales son causadas en su gran mayoría por hongos.

La más devastadora es la roya, pero existen otras como el mal del talluelo, mal rosado o antracnosis que provocan granos de baja calidad, muerte del cafeto y una drástica reducción de la producción de los cultivos.

2.5.1 Mancha de hierro (*Cercospora coffeicola*)

Es causada por el hongo *Cercospora coffeicola*. Afecta el cafeto durante todos sus estados de desarrollo, desde las primeras hojas de las plantas hasta sus frutos. Los cafetales a plena exposición y mal fertilizados son los más susceptibles.

Síntomas:

- En las hojas se manifiesta en forma de pequeñas manchas circulares con borde color ladrillo y centro claro.
- En el fruto las lesiones aparecen en la parte expuesta al sol. Inicia como un hundimiento que se transforma en una mancha oscura que indica necrosis, que es la muerte de los tejidos.

Daños:

- Caída de las hojas, sobre todo en viveros y plantaciones jóvenes.
- Maduración temprana en los frutos.
- Los fuertes ataques afectan el proceso de despulpe de los granos al endurecer la piel de la cereza del café.
- Incrementa la producción de café defectuoso.

2.5.2 Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*)

Es ocasionada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* y puede afectar a todas las partes de la planta (tallos, ramas, hojas, flores y frutos) en diferentes fases de desarrollo. Aparece cuando hay mucha lluvia, mucho sol y poca fertilización. La temperatura entre 20 a 25 grados centígrados favorece su desarrollo.

Síntomas:

- Las hojas lucen manchas irregulares, con anillos concéntricos, que inician en los bordes.
- En las ramas se observan manchas oscuras en la parte superior del nudo, la cual se pudre y muere.
- El fruto presenta hundimientos de color oscuro.

Daños:

- Caída de flores, hojas y frutos.
- Muerte de las ramas.
- Daño en los frutos.

2.5.3 Mal rosado (*Conicium salmonicolor*)

Es provocada por el hongo *Conicium salmonicolor*, que ataca el flujo de nutrientes del café, obstruyendo todo paso de líquidos a través de la planta hasta ocasionarle la muerte. Afecta frutos, ramas y hojas.

Síntomas:

- Aparición de una membrana y costra rosada en las ramas, frutos y hojas.

Daños:

- Pérdida de hojas y muerte de las ramas.
- Momificación de frutos.
- En casos graves afecta la totalidad de la producción.

2.5.6 Ojo de gallo (*Mycena citricolor*)

La ocasiona el hongo *Mycena citricolor*. Se manifiesta en lugares donde hay alta humedad y temperatura.

Síntomas:

- Manchas circulares de color claro en las hojas.

Daños:

- Reducción del follaje hasta dejar a la planta sin fruto y sin hojas.
- Reducción en la producción.

2.5.7 Mal del talluelo (*Rhizoctonia solani*)

Esta enfermedad se produce por el hongo *Rhizoctonia solani* en condiciones de alta humedad, suelos contaminados y mal drenaje. Ocurre en los semilleros.

Síntomas:

- Lesión acuosa de color oscura en la base del tallo.

Daños:

- Obstrucción del traspaso de minerales y agua ocasionando la muerte de las plántulas.

2.5.8 Roya (*Hemileia vastatrix*).

Se trata de la enfermedad más destructiva del café a nivel mundial. Es producida por el hongo *Hemileia vastatrix*, el cual infecta las hojas de los cafetos de todas las edades. Los climas húmedos y cálidos (entre 23 y 25 grados centígrados) propician su desarrollo, mientras que la lluvia y el viento propagan las esporas. Ataca principalmente a la especie Arábica.

Síntomas:

- Manchas redondas de color amarillo en la parte superior de la hoja.
- Por debajo de la hoja se observa un polvillo anaranjado.
- Las lesiones viejas lucen tejido muerto de color café.

Daños:

- Caída prematura de las hojas, lo que limita la fotosíntesis, proceso mediante el cual la planta crea su alimento.
- Incapacidad de la planta para madurar por completo. Si lo hace el fruto tendrá sabor astringente.
- Debilita al árbol enfermo.
- Muerte de las ramas o del árbol si el ataque es severo.
- Reducción del rendimiento de la plantación del café (Café, s. f.).

2.6 Características del género de Roya (*Hemileia vastatrix*)

La roya de cafeto es una enfermedad que se encuentra distribuida de manera cosmopolita en todas las zonas donde se cultiva café. Se conoce como único hospedante al género *Coffea spp.*; infecta principalmente a café arábica (*Coffea arabica*) y café robusto (*Coffea canephora*), y posiblemente a otras 25 especies más. Aún no se conocen hospedantes alternos

La roya infecta las hojas y causa su caída prematura. Las esporas del hongo son conocidas como uredosporas éstas se producen en uredias, cuyas pústulas no están cubiertas por una membrana. Bajo condiciones de alta humedad y presencia de agua libre sobre la superficie de la hoja, germinan y penetran a través de las estomas invadiendo los tejidos internos de la hoja. La expresión de los síntomas requiere de 20 a 40 días a partir de la germinación de las esporas dependiendo de la humedad y temperatura. Una vez que inicia la formación de esporas en las lesiones o manchas, su producción se mantiene activa mientras se mantenga adherida la hoja a la planta. En las hojas, inicialmente se manifiesta con la aparición de lesiones de 1 a 3 mm, color amarillo pálido, translúcidas con apariencia aceitosa que al madurar se tornan de color amarillo naranja, aspecto polvoso y contienen las esporas del hongo. Al envejecer, se tornan de color naranja pálido y en el centro de la lesión amarilla surge una mancha de color café marrón o negro con apariencia

seca que crece e invade toda la superficie de la lesión. Alrededor de la mancha marrón se forma un anillo de color amarillo donde se producen nuevas esporas del hongo y representa una fuente de infección para otro ciclo de la enfermedad. Las lesiones pueden unirse hasta cubrir la hoja y provocar su caída. (*Protocolo de Diagnóstico: Hemileia vastatrix (Roya del cafeto)*, 2018)

Daños al café: La roya del café puede causar una disminución significativa en la producción de café, ya que reduce la capacidad de la planta para fotosintetizar y, por lo tanto, afecta el crecimiento y desarrollo de los granos de café. Esto puede tener un impacto económico negativo en las plantaciones de café y en la industria cafetera en general.

2.7 Información taxonómica

Nombre científico: *Hemileia vastatrix*

Sinónimos: No se conocen

Nombres comunes: Roya del cafeto (español) Coffee rust (inglés)

Clasificación taxonómica:

Dominio: Eukaryota

Reino: Fungi Phylum: Basidiomycota

Clase: Pucciniomycetes

Orden: Pucciniales

Familia: Mikronegeriaceae

Género: *Hemileia*

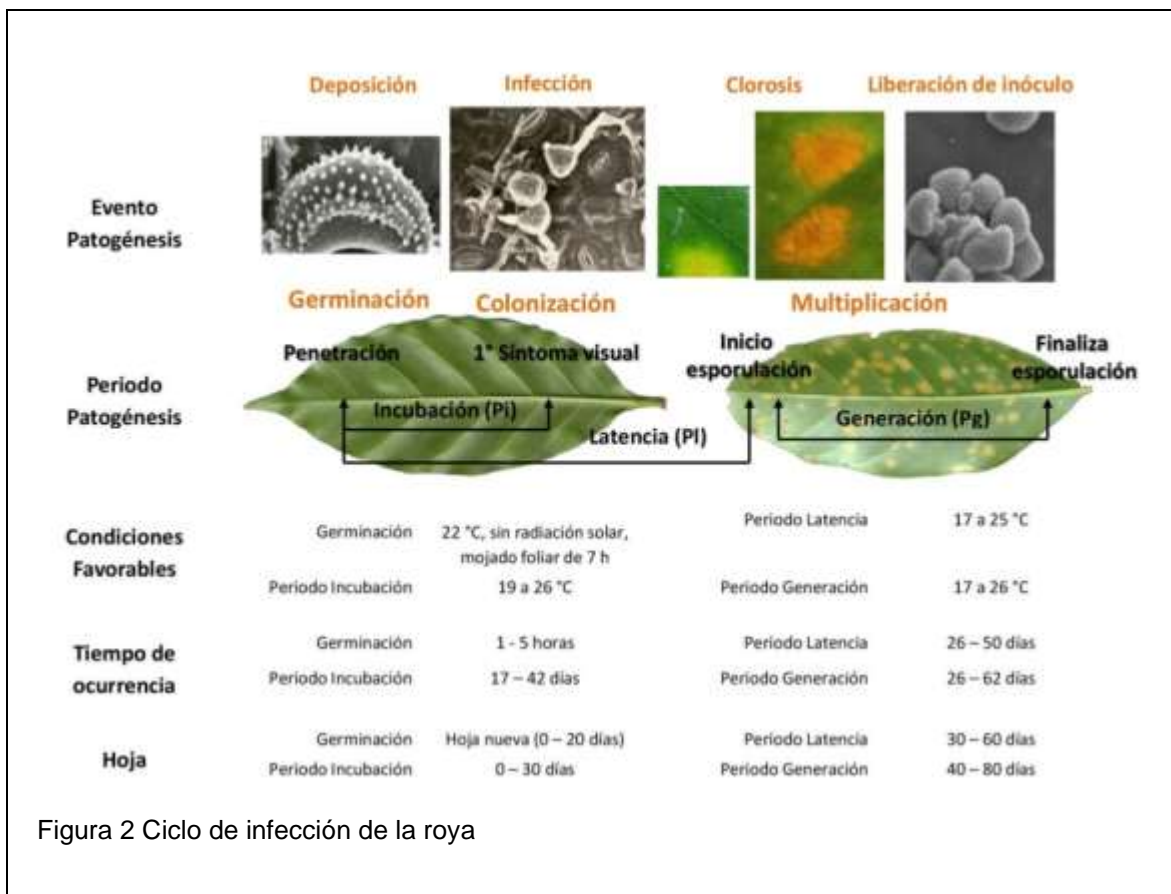
Especie: *Hemileia vastatrix*

(Robert et al., 2005; Aime, 2006)

2.8 Ciclo de infección de la roya

El proceso infectivo de la roya del cafeto comienza con los síntomas de la enfermedad que aparecen en el envés de las hojas, en donde se observan manchas pálidas que con el tiempo aumentan de tamaño y se unen formando las características manchas amarillas o naranja, con presencia de polvo fino amarillo, ahí es donde producen las esporas del hongo. La germinación de esporas requiere de la presencia de agua libre por al menos 6 horas y también es favorecida con temperaturas entre 21-25 °C y condiciones de obscuridad.

El apresorio para formarse requiere de un periodo de 5.3-8.5 hr. La germinación se inhibe por la luz y cuando se evapora el agua de la hoja, ya que afecta el crecimiento de los tubos germinativos. Sin embargo, luego de germinar, el hongo penetra en las hojas a través de las aberturas naturales (estomas) situadas en el envés de las hojas maduras. Una vez que ha penetrado al interior de la hoja, el hongo desarrolla unas estructuras denominadas haustorios, los cuales entran en contacto con las células de la planta y con éstos extraen los nutrientes para su crecimiento. Luego de transcurrido 30 días, después de la colonización, el hongo está lo suficientemente maduro como para diferenciarse en estructuras llamadas soros, que son las encargadas de producir nuevas urediniosporas. El tiempo transcurrido desde la infección hasta la producción de esporas se denomina periodo de latencia (*Roya del cafeto*, 2019).



2.9 Control de la Roya

2.9.1 Control cultural

Se recomienda mantener un buen programa nutricional y reducir la sombra excesiva con el fin de evitar rangos de temperatura favorables para el desarrollo de la plaga, lo cual también reducirá la humedad relativa y adicionalmente estimulará el incremento de área foliar y la vida media de las hojas. Así mismo, evitar densidades de plantación altas (superior a 10 000 plantas por sitio) para impedir la proliferación de múltiples chupones que induzcan auto sombreado (Hernández et al., 2021)

2.9.2 Control químico

En México, se requiere determinar las condiciones específicas para realizar las aplicaciones de fungicidas; sin embargo, es importante considerar la fenología de la planta, por lo que se recomienda al inicio del nuevo ciclo de cultivo realizar

aplicaciones de fungicidas con productos de contacto y posteriormente aplicar un fungicida sistémico para reducir la carga de inóculo. A partir del mes de abril de 2013, se mantiene vigilancia fitosanitaria sobre los cafetales con una periodicidad quincenal para detectar los primeros síntomas provocados por la roya del café, a fin de iniciar las acciones de manejo; que, en fase preventiva, se aplica oxiclóruo de cobre o acciones curativas con cyproconazole, azoxistrobin y triadimefon en función de la disponibilidad económica del productor (Hernández et al., 2021)

2.9.3 Control biológico de la Roya

2.9.3.1 Biofungicidas basados en bacterias

Las bacterias que han sido seleccionadas para la formulación de biofungicidas con acción contra *H. vastatrix* pueden poseer alguno o todos los mencionados mecanismos de acción (Tabla 3); en general, las bacterias de los géneros *Bacillus* son las que presentan los mejores resultados para disminuir el daño por roya del café. Estas bacterias, producen enzimas hidrolíticas que degradan los polisacáridos que componen las paredes celulares de los hongos y sintetizan lipopeptidos que son antagonistas contra virus, micoplasmas, otras bacterias, levaduras, hongos y nemátodos. Además, potencializan el sistema inmune de la planta, aumentando con esto su resistencia a la colonización de sus tejidos por *H. vastatrix*. Un ejemplo de este mecanismo es la inducción de la Resistencia Sistémica Inducida (ISR por sus siglas en inglés) ocasionada por las fengicinas y surfactinas producidas por diversas cepas de *Bacillus* (Hernández. et al., 2021).

Tabla 3 Principales bacterias usadas con efecto fungicida como control biológico en roya del café

Especie	Concentración de inóculo utilizado en pruebas (UFC)	Reducción de lesiones en hojas de café (%)	Reducción de germinación de esporas <i>H. vastatrix</i> (%)	Mecanismos de Biocontrol	Referencia
<i>Bacillus thuringiensis</i>	SD	76-90	SD	Induce resistencia sistémica en los cafetos y la producción de enzimas hidrolíticas (β -1,3-glucanasa y quitinasa) y metabolitos fungicidas	Roveratti et al., 1989; Guzzo y Martins, 1996
<i>Bacillus lentimorbus</i>	1×10^8	SD	50	producción de enzimas hidrolíticas (β -1,3-glucanasa y quitinasa) y metabolitos fungicidas	Shiomi et al., 2006
<i>Bacillus cereus</i>	1×10^8	SD	50	hidrolíticas (β -1,3-glucanasa y quitinasa) y metabolitos fungicidas	
<i>Bacillus subtilis</i>	1-4.3x10 ⁸	87	100	Actividad antagonista, índice resistencia sistémica en los cafetos, producción de metabolitos fungicidas	Bettiol y Varzea, 1992; Daivasikamani y Rajanaika 2009
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		36	64		
<i>Bacillus megaterium</i>	1×10^8	SD	28 a 13	Inducción de resistencia sistémica, colonización de sitios de infección.	Silva et al., 2012
<i>Salmonella entérica</i>		74*	SD		
<i>Pectobacterium carotovorum</i>		55*	SD		
<i>Brevibacillus choshinensis</i>		SD	28 a 9		
<i>Microbacterium testaceum</i>		SD	28 a 10		
<i>Cedecea davisae</i>		43*	SD		

SD Sin datos; *En número de pústulas; UFC Unidades Formadoras de Colonias

(Hernández et al., 2021)

2.9.3.2 Biofungicidas basados en hongos

El género de hongos más estudiado como agente de biocontrol es *Trichoderma*, el cual puede utilizarse tanto de manera foliar (e.g. para el control de la roya del café), así como para suprimir patógenos de la rizósfera.

Tabla 4 Principales Hongos usados con efecto fungicida como control biológico en roya del café

Especie	Concentración de inóculo utilizado en las pruebas (# esporas)	Reducción en de lesiones en hojas de caféto %	Reducción en hojas de urenidiosporas de <i>H. Vastatrix</i>	Mecanismos de Biocontrol	Referencias
<i>Lecanicillium spp</i>	5x10 ⁶	SD	68% después de 120h de inoculación	Hiperparasitismo	Galvao y Bettiol,2014;
<i>Simplicillium spp</i>	5x10 ⁶	SD	89% hiperparasitadas después de 24h de inoculación		Gomez-de la Cruz et al., 2018
<i>Calcarisporium sp</i>	5x10 ⁶	SD	51% hiperparasitadas después de 120h de inoculación		Gomez-de la Cruz et al., 2018
<i>Trichoderma spp</i>	SD	SD	SD	Hiperparasitismo Producción de enzimas líticas (quitinasas), inducción de resistencia sistémica, aumenta el vigor de la planta.	Viterbo et al., 2002; Harman,2000
<i>Fusarium spp</i> <i>Penicillium spp</i> <i>Acremonium sp</i> <i>Cladosporium sp</i> <i>Aspergillus sp</i>	1x10 ⁶	83-89 80-92 84 89 97	95-99% después de 40 días. 90-98% después de 40 días. 91% después de 40 días 96% después de 40 días. Eliminación después de 40 días.	No especificado	Haddad et al., 2014

SD sin datos (*Hernández et al., 2021*)

Lo anterior se debe a que este género fúngico produce gran cantidad de metabolitos que pueden ser utilizados como agentes de biocontrol, como lo son trichodermamidas, viridinas, antraquinonas, pironas, estatinas, derivados de ergosterol, harziolactonas, por mencionar algunos.

Sin embargo, al menos ocho géneros más han mostrado antagonismo contra *H. vastatrix*. La efectividad de los hongos mostradas en la Tabla 4 son superiores al 80%, disminuyendo la afección por *H. vastatrix* en tejidos foliares de cafetos, así como en la producción de urediniosporas. No obstante, a pesar de los promisorios resultados reportados en estudios en laboratorio, pocos estudios han probado la efectividad de hongos como agentes de control de la roya de café en campo, y los que lo han hecho han encontrado resultados contradictorios. (Hernández et al., 2021)

2.9.3.3 Biofungicidas basado en metabolitos naturales

A diferencia de los biofungicidas que utilizan como agente de control células bacterianas o fúngicas vivas, los biofungicidas basados en metabolitos naturales únicamente utilizan productos o componentes de dichas células, los cuales también pueden ser sintetizados artificialmente para su producción y aplicación. Además, la obtención de estos biofungicidas no se restringe a fuentes bacterianas o fúngicas, ellos pueden obtenerse de plantas, algas y animales, ya que el agente de control es un componente que no pierde su actividad biológica al ser extraído de su organismo productor. Esto facilita su almacenaje, transporte y aplicación, pero no genera el establecimiento de interacciones benéficas entre agente de control biológico y planta de café, que pudiesen ofrecer protección contra *H. vastatrix* durante mayor tiempo. Actualmente, se han realizados estudios en los cuales se ha evaluado la efectividad de biofungicidas elaborados con *Azadirachta indica* (neem), *Melaleuca alternifolia* (árbol de té) y la combinación de *Bacillus subtilis* con *Azadirachta indica* y *Syzygium aromaticum* (clavo) en el control de la roya causada por *H. vastatrix* en

dos variedades de cafeto, observando que, aunque no se logró erradicar la roya del cafeto, si hubo una disminución en el progreso de la enfermedad y la tasa de infección aparente. (Hernández et al., 2021)

Tabla 5 Metabolitos naturales con actividad fungicida contra la roya del café

Metabolito	Disminución en lesiones foliares (%)	Inhibición de la germinación de esporas de <i>H. vastatrix</i>	Mecanismo de Biocontrol	Referencia
Expolisacaridos de <i>Xanthomonas campestris</i> , e.g. β -mananos Goma xantana	80 90	SD SD	Inducción de resistencia sistémica, provocando disminución de lesiones foliares cuando se aplica 72h antes de la inoculación con <i>H. vastatrix</i>	Guzzo et al., 1993
Oligómeros de quitosano	75-100	99%	Actividad antifúngica, mediante de inhibición de la germinación de esporas de <i>H. vastatrix</i> , así como reducción de daño foliar en cafetos si es aplicado 24h antes de exposición	Silva-Castro et al., 2018
Extractos etanolicos de propóleo	SD	54%	Actividad antifúngica, mediante de inhibición de la germinación <i>H. vastatrix</i>	Silva-Castro et al., 2018
Extracto de <i>Allium sativum</i> Extracto de <i>Vernonia polysphaera</i>	SD SD	100% 92%	Inhibición de la germinación de urediniosporas	Silva et al., 2014
Extracto o aceite esencial de <i>Cymbopogon nardus</i> Extracto o aceite esencial de <i>Cymbopogon citratus</i> Aceite esencial de <i>Cinnamomum verum</i> Aceite esencial de <i>Thymus sp.</i>	SD SD SD SD	98-100% 97-100% 100% 100%	Inhibición de la germinación de urediniosporas, agentes antimicrobianos monoterpenos, con dosis =1000 μ L L ⁻¹	Pereira et al., 2012; Silva et al., 2014 Pereira et al., 2012;
Aceite esencial de <i>Malaleuca altemifolia</i>	SD	100%	Inhibición de la germinación de urediniosporas, agentes antimicrobianos del grupo de los terpenos y gualacol, con dosis =1000 μ L L ⁻¹	Pereira et al., 2012;

CONTINUACIÓN				
Metabolito	Disminución en lesiones foliares (%)	Inhibición de la germinación de esporas de <i>H. vastatrix</i>	Mecanismo de Biocontrol	Referencia
Ácidos carboxílicos (etil-formato, propiónico, octadecenoico, metil-acetato) de <i>Pichia membranifaciens</i>	SD	~10-50% menos severidad vs control	Desaceleración del proceso de infección en plantaciones del café.	Andrade et al., 2018

2.10 *Trichoderma sp.*

Trichoderma spp., tiene diversas ventajas como agente de control biológico, pues posee un rápido crecimiento y desarrollo. Aparte de esto produce una gran cantidad de enzimas, inducibles con la presencia de hongos fitopatógenos. Puede desarrollarse en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura. Su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y a hábitats donde los hongos causan enfermedades, le permiten ser un eficiente bio-agente de control. De igual forma, puede sobrevivir en medios con contenidos significativos de agrodefensivos y otros químicos. Aparte, su gran variabilidad se constituye en un reservorio de posibilidades de control biológico, bajo diferentes sistemas de producción y cultivo (*TRICHODERMA SPP. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES*, 2015)

Trichoderma es un género de hongos filamentosos que se encuentra en el suelo, el agua y otros entornos naturales. Algunas especies de *Trichoderma* son conocidas por sus propiedades beneficiosas, ya que pueden actuar como agentes de biocontrol y promover el crecimiento de las plantas. A continuación, se presentan algunas características y usos de *Trichoderma spp.*:

1. Biocontrol: *Trichoderma spp.* son conocidos por su capacidad para actuar como agentes de control biológico en la agricultura. Estos hongos son antagonistas naturales de otros patógenos de plantas, como hongos patógenos y nematodos, y pueden ayudar a prevenir enfermedades de las

plantas al competir por recursos y liberar compuestos antimicrobianos que inhiben el crecimiento de patógenos.

2. Promoción del crecimiento de las plantas: *Trichoderma spp.* también pueden promover el crecimiento de las plantas mediante la mejora de la absorción de nutrientes, la estimulación del sistema de defensa de la planta y la producción de fitohormonas, como las auxinas, que favorecen el desarrollo de las raíces y la formación de tallos.
3. Descomposición de materia orgánica: Algunas especies de *Trichoderma* son eficaces en la descomposición de la materia orgánica, lo que contribuye a la liberación de nutrientes en el suelo y la mejora de la estructura del suelo.
4. Amplia distribución: *Trichoderma spp.* se encuentran en todo el mundo en una variedad de hábitats, desde el suelo hasta los desechos orgánicos en descomposición y los sistemas acuáticos.
5. Uso en la agricultura: Los productos que contienen *Trichoderma spp.* se utilizan en la agricultura como biofungicidas y bioestimulantes de las plantas para ayudar en la prevención y el manejo de enfermedades de las plantas y promover el crecimiento de cultivos.
6. Investigación biotecnológica: *Trichoderma spp.* también son objeto de investigación en biotecnología y microbiología, ya que se estudian para comprender sus interacciones con otros microorganismos y su potencial en aplicaciones agrícolas y ambiental.

2.11 Planteamiento del problema.

Desde 1989, el ascenso de la producción de café orgánico marcó un cambio significativo. Este cambio se manifestó cuando el café convencional experimentó una disminución notable debido al desmantelamiento de Inmecafe. La transición hacia un mercado libre expuso a las comunidades que dependían de la producción de café a la dinámica competitiva, resultando en la ascendencia de grandes consorcios cafetaleros oligopólicos.

No obstante, este dominio de los consorcios se vio amenazado con la irrupción del café de calidad. Cadenas especializadas como Starbucks desempeñaron un papel crucial al fomentar la apreciación por el café de alta calidad, dando forma a un mercado más segmentado. En este nuevo escenario, los consumidores incorporaron consideraciones ambientales, transformando la dinámica del mercado cafetalero.

En la actualidad, la búsqueda de una producción sostenible se ha vuelto imperante, con un enfoque en criterios agroecológicos y técnicas que promueven la conservación y el fomento de la biodiversidad. Este cambio de paradigma ha impulsado a los productores a explorar alternativas en la producción de café orgánico, reflejando un compromiso creciente con prácticas agrícolas que respetan el medio ambiente y contribuyen a la salud a largo plazo de las plantaciones cafetaleras.

Sin embargo, el cultivo orgánico de café enfrenta desafíos específicos en el control de la roya (*Hemileia vastatrix*), un hongo que puede causar daños significativos a las plantaciones de café ya que se tiene limitaciones en el uso de fungicidas sintéticos. En la agricultura orgánica, el uso de fungicidas sintéticos está restringido. Muchos de los fungicidas convencionales eficaces contra la roya no son permitidos en la producción orgánica. Esto limita las opciones disponibles para el control químico de la enfermedad.

Aunque existen fungicidas orgánicos, su eficacia puede variar y, en algunos casos, pueden no ser tan potentes como los fungicidas sintéticos. Esto puede hacer que sea más difícil controlar la roya de manera efectiva.

Dado que las opciones de control químico son limitadas, el monitoreo constante de las plantaciones es esencial. Esto implica la inspección regular de las plantas para detectar signos tempranos de infección por roya y la aplicación oportuna de medidas de control.

Por lo cual se busca medidas de control biológico, como lo podría ser el *Trichoderma sp* para el control de roya de café.

2.12 Justificación

El café, como uno de los productos agrícolas más consumidos y comercializados globalmente, desempeña un papel fundamental en la economía de diversas regiones, proporcionando empleo e ingresos a numerosos agricultores. No obstante, su producción enfrenta una amenaza significativa en forma de roya, una enfermedad devastadora causada por el hongo *Hemileia vastatrix*. Las infecciones severas no solo generan pérdidas sustanciales en la producción y disminuyen la calidad del grano, sino que también afectan la sostenibilidad económica de las plantaciones.

En el ámbito del cultivo orgánico de café, las limitaciones inherentes a los métodos de control convencionales se vuelven más evidentes, dado que estos no solo impactan negativamente en el medio ambiente, sino también en la salud humana y la calidad del producto final. En respuesta a estos desafíos, se busca implementar estrategias de control biológico como es el manejo con *Trichoderma sp*, que ofrecen una alternativa sostenible y respetuosa con el medio ambiente para gestionar la roya en las plantaciones de café. La utilización de agentes biológicos para combatir la enfermedad no solo minimiza los impactos negativos asociados con el uso de productos químicos, sino que también impulsa la adopción de prácticas agrícolas más sostenibles y ecológicas.

Este enfoque no solo es beneficioso para la preservación del medio ambiente, sino que también contribuye a la salud a largo plazo de las plantaciones de café. Al reducir la dependencia de productos químicos, se promueve la armonía entre la producción agrícola y los ecosistemas circundantes.

Además, la investigación centrada en el control biológico de la roya en el café no solo aborda un problema urgente en la producción agrícola, sino que también aporta al conocimiento científico en los campos de la fitopatología y la agricultura sostenible. Los hallazgos resultantes de esta investigación pueden traducirse en prácticas más efectivas, beneficiando a agricultores, investigadores y aquellos responsables de la toma de decisiones en el ámbito agrícola. Este compromiso con

la investigación y la aplicación de soluciones sostenibles es esencial para garantizar la resiliencia y viabilidad a largo plazo de la industria del café.

Por dichos motivos se realizaron las pruebas para evaluar la eficiencia del *Trichoderma* como biocontrol para la roya de café *ex vitro*. Estableciendo semillas de café para después infectarlas con roya y poder evaluar la efectividad del *Trichoderma* mediante la evaluación de la sintomatología contemplando los siguientes parámetros: severidad de hoja, severidad de planta y defoliación.

III Objetivos

3.1 General

Evaluar el efecto de cepas de *Trichoderma sp* en el control biológico de roya de café en condiciones de invernadero.

3.2 Específicos

- Establecer semillas de café en condiciones *in vitro*.
- Evaluar el efecto de la calidad de luces en la germinación y desarrollo de las plántulas de café en condiciones *in vitro*.
- Evaluar el efecto del filtrado de *Trichoderma sp* en la germinación y desarrollo de la plántula de café en condiciones *ex vitro*.
- Establecer las condiciones de inoculación de roya en plántulas bajo condiciones *in vitro*.
- Evaluar el *Trichoderma sp* como control biológico de roya en plantas de café en condiciones de invernadero.

IV Hipótesis

El *Trichoderma sp* autóctono aislado de zonas cafetaleras controlará la roya (*Hemileia vastatrix*) en plántulas de café.

V MATERIALES Y METODOS

5.1 Experimentos en condiciones *in vitro*

5.1.1 Protocolo de desinfección de semillas de café

Para el establecimiento en condiciones *in vitro*, se utilizaron semillas con edades de 9 meses y 4 meses después de su recolección, estas fueron despulpadas y secas, se les eliminó manualmente el endocarpio (pergamino) y se sometieron a un proceso de desinfección en condiciones asépticas con soluciones estériles, se colocaron las semillas en una solución desinfectante con benomilo (1g L^{-1}) y estreptomycin (0.3 g L^{-1}) durante 20 minutos, posteriormente se realizaron 3 enjuagues con agua destilada, enseguida se colocaron en una solución al 5.25% de cloro comercial (cloralex) durante 20 minutos y se les dio tres enjuagues con agua destilada, después se sometieron en etanol al 70% por 2 minutos y se realizaron nuevamente 3 enjuagues con agua destilada, finalmente se transfirieron en una solución con 0.1 g L^{-1} ácido ascórbico y 0.15 g L^{-1} ácido cítrico durante 1 minuto y se transfirieron en el medio semisólido en condiciones de obscuridad a $27\pm^{\circ}\text{C}$

5.1.2 Preparación de Medio de Cultivo para la germinación.

Se preparó medio de cultivo ZG semisólido para la germinación de la semilla de café (Quiroz *et al.*, 2006) suplementado con 0.1mg L^{-1} de ácido naftalenacético (ANA) y 0.5 mg L^{-1} de cinetina, también se adicionó 30 g L^{-1} de sacarosa y 4 g L^{-1} de gelrite. Se ajustó el pH a 5.8 antes de adicional el gelificante, posteriormente se esterilizó a $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ a 117 kPa , durante 20 minutos.

5.2 Experimento del efecto de diferentes longitudes de onda de luz visible en la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de café

La viabilidad de las semillas puede variar según su edad al momento de la recolección. Para explorar esta variabilidad, llevamos a cabo dos experimentos utilizando semillas de diferentes edades, se trabajó con semillas que tenían tan solo 4 meses de edad.

Las semillas fueron desinfectadas y se colocaron en el medio de cultivo MS sometiéndolo en diferentes longitudes de onda dentro de la luz visible: T0 (Control) Luz blanca. T1. Oscuridad; T2. Luz roja (700nm), T3. Luz azul (450nm), TG4. Luz

Morada (400 nm) todos los tratamientos se mantuvieron en las siguientes condiciones $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperiodo 16h luz durante el experimento.

La evaluación se dividió en dos etapas, germinación y desarrollo de la plántula, para la evaluación de la germinación se realizó cada tercer día, hasta el día 30, Se consideró que la semilla germinaba cuando la radícula rompía la testa, así mismo se calcularon los porcentajes de contaminación y fenolización.

En cuanto a la evaluación de la plántula, se evaluó cada mes, los siguientes parámetros de desarrollo de la plántula: longitud de la planta (LP), longitud del hipocótilo (LHP), número de cotiledones desarrollados (C), número de hojas verdaderas (HV), número de raíces (NR), longitud de raíz principal (LRP), peso fresco (P-F) de cada uno de los tratamientos. Cabe aclarar que el parámetro de L-P se consideró la longitud a partir de la base del tallo hasta el ápice de la plántula.

5.3 Experimento del efecto de filtrados de *Trichoderma sp* en la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de café

5.3.1 Obtención del filtrado del cultivo de hongos (FDT).

Como fuente de inóculo para la producción del FDT se utilizaron esporas de *Trichoderma sp*. Se inocularon 1 mL de una suspensión de esporas de 1×10^6 esporas/mL en matraces Erlenmeyer con capacidad de 1 L con 0.5 L de medio PDB (Potato Dextrose Broth). En seguida se colocaron en agitación a 200 rpm, en oscuridad total a una temperatura 28°C durante 30 días. Posteriormente, se recolectó el producto formado y se centrifugó a 3000 rpm a 25°C durante 5 min para la separación del micelio. Después, en campana de flujo laminar se realizó el proceso de filtrado del sobrenadante con filtros de papel. El FDT se recuperó en recipientes esterilizados y se almacenó a -20°C hasta su uso.

5.3.2 Aplicación de filtrados (FDT) de *Trichoderma sp* en semillas de café en condiciones *ex vitro*

Se utilizaron charolas de germinación, las cuales se lavaron y desinfectaron con cloro comercial al 30% durante 30 minutos, posteriormente se enjuagaron con agua corriente. Se colocó sustrato estéril (3:1 de peatmoss y agrolita respectivamente),

en cada cavidad de la charola se sembró una semilla, previamente sumergidas durante 72 h en los filtrados de *Trichoderma sp.* (FDT) empleando dos concentraciones de FDT del 25 y 50% de cada cepa, como se indica a continuación: C1. Control (Agua). Cepa *Trichoderma* comercial (50% FDT), T1. Cepa LE21 (50 % FDT), T2. Cepa LE59 (50% FDT), T3. Cepa LE47 (50% FDT), T4. Cepa LE116 (50% FDT), T5. Cepa LE21 (25% FDT), T6. Cepa LE59 (25% FDT), T7. Cepa LE47 (25% FDT), T8. Cepa LE63 (25% FDT), T9. Cepa LE116 (25% FDT) T10. *Trichoderma* Comercial (25% FDT), T10. Las charolas se mantuvieron a una temperatura que oscilaba entre 25°C a 29°C en un fotoperiodo de 16h luz /8h oscuridad. Se evaluó el porcentaje de germinación cada semana después del establecimiento del experimento hasta el día 30. Posteriormente se realizaron evaluaciones de la germinación/desarrollo de la plántula (Emergencia, Cotiledones abiertos y cerrados, longitud de tallo, numero de hojas y mortalidad).

La evaluación se dividió en dos etapas: germinación y desarrollo de la plántula. En la etapa de germinación, se examinó el porcentaje de germinación y el índice de velocidad de germinación (Maguire, 1962), con evaluaciones realizadas cada siete días hasta el día 30. Se consideró que una semilla había germinado cuando la radícula rompía la testa. Además, se monitorearon parámetros como la contaminación y la fenolización.

En cuanto a la evaluación del desarrollo de la plántula, se llevaron a cabo evaluaciones mensuales de los siguientes parámetros: longitud de la planta (LP), longitud del hipocótilo (LHP), número de cotiledones desarrollados (C), número de hojas verdaderas (HV), número de raíces (NR), longitud de la raíz principal (LRP) y peso fresco (P-F) en cada uno de los tratamientos. Es importante destacar que la longitud de la planta (L-P) se midió desde la base del tallo hasta el ápice de la plántula.

5.4 Material biológico y desinfección del inoculo.

Se usó la cepa de *Hemileia vastatrix* encontrada en plantas vivas de café con la sintomatología de la enfermedad de roya de café. Obtenidas en zonas cafetaleras de la localidad La Becerrera, en Comala, Colima, con una latitud; 19.2655 y una longitud; -103.4235.

Para la obtención del inoculo, se realizó un raspado con un bisturí en las pústulas aglomeradas (uredinosporas) ubicadas en la parte abaxial de la hoja, recolectando el inoculo sobre una caja Petri, recuperando la mayor cantidad del inoculo. Una vez recolectado se colocaron en tubos Falcon con una solución Tween 80 más agua destilada a una concentración de 1 mL L⁻¹ y se cuantificó en la cámara de ajustando a 1x10⁴ uredinosporas mL⁻¹, posteriormente se efectuó el proceso de desinfección de las uredinosporas, preparando las soluciones antibióticas cloramina al 2% y Cloranfenicol al 0.02% más Ampicilina al 0.01%.

Los tubos Falcón en donde se contenían las Uredinosporas se centrifugaron a 1000 rpm por 15 min, en seguida se decantó y se lavó con agua destilada, después se suspendió en 4 mL de Cloranfenicol (0.02%) más Ampicilina (0.02%), y estos se dividieron en 4 tubos eppendorf, con 1 mL cada tubo y se centrifugo a 1000 rpm durante 15 min. Se decantó y añadió agua destilada para continuar con los lavados, se agregó Cloramina 1 mL (2%), nuevamente se centrifugo a la misma velocidad y finalmente se decantó y se resuspendieron en agua destilada.

5.5 Inoculación de la roya (*Hemileia vastatrix*) a diferentes concentraciones.

En la inoculación de las plantas de café in vitro, se establecieron en dos condiciones, la primera las plantas se colocaron en medio MS, sin sacarosa (Medio MS-S) y la segunda condición las plantas fueron colocadas en frascos de vidrio con sustrato (S), peat moss con vermiculita a una proporción de 3:1. Las plantas propagadas in vitro se inocularon con roya (*Hemileia vastatrix*) con diferentes concentraciones (1x10², 1x10³ y 1x10⁴ esporas mL⁻¹) además del control, el cual no se le inoculo roya.

5.6 Evaluación de cepas de *Trichoderma sp* como control biológico de roya (*Hemileia vastatrix*) en vitroplantas de café (*Coffea arabica*) en condiciones ex vitro.

Las plantas se distribuyeron en seis tratamientos: CBC1 - Plantas control negativo, tratadas con agua destilada; CBHV-Plantas control positivo, inoculadas con roya; CBLE21-Plantas inoculadas con la cepa de *Trichoderma sp*. LE21; CBLE59- Plantas inoculadas con la cepa de *Trichoderma sp*. de LE59; CBLE47-Plantas inoculadas con la cepa de *Trichoderma sp*. de LE47; CBLE116- Plantas inoculadas con la cepa de *Trichoderma sp*. de LE116. En este experimento las plantas se inocularon en el día -15 con 1×10^6 esporas mL^{-1} con las cepas de *Trichoderma sp* correspondientes a los tratamientos CBLE21, CBLE59, CBLE47 y CBLE116. Posteriormente en el día cero se realizó la inoculación de roya (*Hemileia vastatrix*) con 3 mL de una suspensión de uridenosporas de 1×10^4 esporas mL^{-1} en todos los tratamientos excepto en el control negativo (CBC1). Las plantas se mantuvieron en el invernadero y se monitorearon durante 90 días para observar el desarrollo de la enfermedad, tomando como referencia la Ficha Técnica 40, Roya del Café, SENASICA (SENASICA, 2016).

5.7 Prueba de eficacia biológica

Se estableció un experimento con plantas de café de *in vitro*. Estos fueron tratados con soluciones de 1 ml aproximadamente de Uredinosporas. Los parámetros evaluados fueron incidencia de la enfermedad, severidad, porcentaje de hojas enfermas y defoliación.

Incidencia de enfermedades

Las plantas se evaluaron visualmente y la incidencia de enfermedades se calculó basándose en la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia de la enfermedad (\%)} = \frac{\text{Plantas enfermas}}{\text{Plantas totales}} * 100$$

Gravedad de la enfermedad

La escala de 7 valores propuesta en la Ficha Técnica de la DGSV N°. 40 de SENASICA.

Defoliación

La defoliación se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$Defoliacion (\%) = \frac{hojas caidas}{Hojas totales} * 100$$

Hojas de enfermedad

Las hojas enfermas se determinaron mediante la siguiente ecuación:

$$Hojas enfermas (\%) = \frac{Hojas enfermas}{Hojas totales} * 100$$

Cálculo del área bajo la curva para la progresión de la enfermedad (AUDPC)

El área bajo la curva para la progresión de la enfermedad se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n \left[\frac{(Y_{i+1} + Y_i)}{2} \right] [(X_{i+1} - X_i)]$$

Donde n es el número de mediciones de enfermedades a lo largo del tiempo; $(Y_i$ y $Y_{i+1})/2$ es el punto medio entre $(Y_i$ y $Y_{i+1})$, que representa la cantidad de enfermedad en un intervalo de tiempo correspondiente a la altura de cada rectángulo; y $(X_{i+1} - X_i)$ representa el tiempo (d) entre dos enfermedades evaluaciones y el ancho de cada rectángulo.

VI RESULTADOS

6.1 Efecto de diferentes longitudes de onda de luz visible en la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de café

En este experimento, se emplearon semillas de cuatro meses de edad, sometidas a evaluaciones en dos etapas distintas. En la primera etapa, se llevó a cabo el análisis de germinación (GER), velocidad de germinación (IVG) y porcentaje de fenolización (%FENO) durante los primeros 30 días. En la segunda etapa, se evaluaron varios parámetros de desarrollo, como el número de raíces (NR), longitud de raíces (LR), número de hojas (NH), número de nudos (NN), longitud de hipocotilo (LH), longitud de tallo (LT) y, finalmente, la longitud del ex plante (LE), en un período de 90 días.

En la evaluación de la germinación de las semillas de café, se considera que una semilla ha germinado cuando la testa se rompe y emerge la radícula. Se realizó un seguimiento semanal del porcentaje de germinación durante 30 días, contabilizando el número de semillas que germinaron.

Entre los diferentes tratamientos, se observó que tanto el tratamiento T0 (luz blanca) como el T4 (luz morada) mostraron un porcentaje de germinación del 96.67%, seguidos por el tratamiento T2 (luz roja) con un 90%. A continuación, el tratamiento T3 (luz azul) exhibió un porcentaje de germinación del 86.67%. Por último, el tratamiento con menor porcentaje de germinación fue el T1 (oscuridad), alcanzando un 76.67%. Ver figura 3.

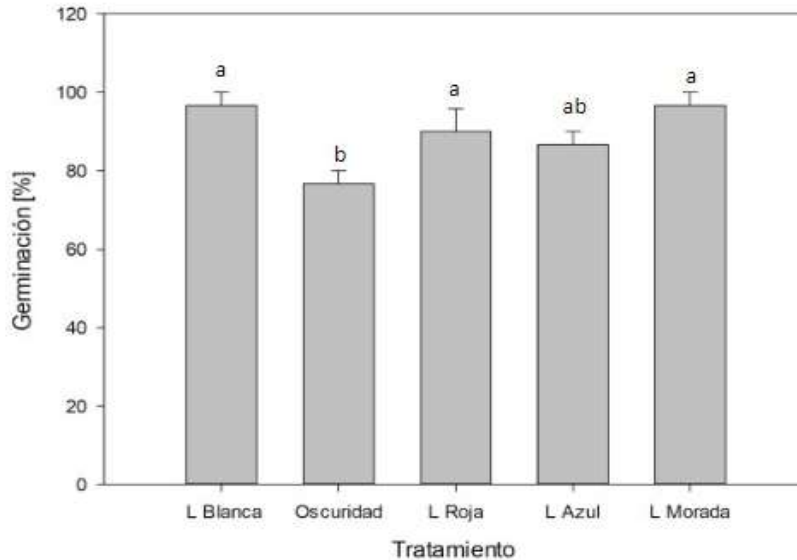


Figura 3 Porcentaje de germinación en diferentes calidades de luz visible, al día 90

6.1.1 Índice de velocidad de germinación (IVG).

En la evaluación del índice de velocidad de germinación, se realizó un seguimiento semanal a lo largo de 30 días. Se aplicó un análisis ANOVA que representó las desviaciones estándar y el error estándar, y las letras diferentes entre columnas indicaron diferencias significativas según la prueba LSD ($P < 0.05$).

Se observó que el tratamiento que mostró una mayor velocidad de germinación fue el T0 (Luz blanca), con un valor de 4.41. Le siguió el tratamiento T2 (Luz morada) con un valor de 3.67, luego el tratamiento T2 (Luz roja) con un valor de 3.39, y finalmente, los tratamientos T0 y T3, con valores de 3.15 y 3.15 respectivamente. Ver tabla 6.

Tabla 6 Índice de Velocidad de Germinación

Calidad de luz	Tratamientos	IVG (4 meses) ⁺
Blanca	T0	4.41 ± 0.47a
Oscuridad	T1	3.39 ± 0.67ab
Roja	T2	3.47 ± 0.86ab
Azul	T3	3.15 ± 0.69b
Violeta	T4	3.67 ± 0.56ab

*IVG -Índice de velocidad de germinación

+En el cuadro se representan las medias con su error estándar y las diferentes letras entre columnas indican diferencias significativas con la prueba LSD (P < 0.05)

6.1.2 Desarrollo de plántulas de café.

En cuanto a la etapa del desarrollo de la plántula, el tratamiento T2 presento un valor mayor en cuanto al número de hojas (2.48), seguido de este tratamiento se encuentra T0 (Luz blanca), con un valor de 2.20, T4, de 1.69, T3 con u valor de 1.19, y finalmente T1 con un valor de 0.18 presentando en todos los tratamientos diferencias significativas.

Por otra parte, en lo que respecta al número de raíces (NR), el tratamiento T4 mostró el valor más alto, con un total de 1.67. haciendo mención al experimento de los 9 meses, este tratamiento fue uno de los que presentaron valores muy bajos. Le siguió el tratamiento T2 (Luz Roja) con un valor de 1.37, después el tratamiento T0 (Luz Blanca) con un valor de 1.17. A continuación, se encuentra el tratamiento T3 (Luz azul) con un valor de 1.08, y finalmente, el tratamiento T1 (Oscuridad) con un valor de 0.96. Es importante destacar que se observaron diferencias significativas entre todos los tratamientos en este parámetro.

En cuanto a la longitud de la raíz (LR), el tratamiento T2 (Luz Roja) exhibió el valor más alto, alcanzando 3.19. Le siguió el tratamiento T3 (Luz Azul) con un valor de 1.22. A continuación, se observa el tratamiento T4 (Luz Morada) con un valor de

1.77, seguido por T3 (Luz Azul) con un valor de 1.22. Finalmente, el tratamiento T1 obtuvo el valor más bajo, registrando 0.84. Cabe destacar que se observaron diferencias significativas en estos últimos tratamientos.

En cuanto al parámetro de longitud del hipocótilo (LH), el tratamiento T1 (oscuridad) registró el valor más alto, alcanzando 2.15. Además, este mismo tratamiento presentó un valor más elevado en el experimento de 9 meses. Le siguió el tratamiento T0 (luz blanca) con una longitud de 1.59, seguido por el tratamiento T2 (luz roja) con 1.40. A continuación, el tratamiento T4 (luz morada) mostró una longitud de 1.32 y, finalmente, el tratamiento T3 (luz azul) obtuvo un valor de 1.30. Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos T1, T2 y T3.

Tabla 7 Desarrollo de plántulas de café bajo condiciones de calidades de luz visible

4							
meses	NH**	NR**	LR*	LH*	LE*	NN*	LT*
T+							
<i>T0</i>	2.20±0.40 ^{ab}	1.17±0.21 ^{ab}	2.48±0.45 ^a	1.59±0.29 ^{ab}	3.81±0.70 ^{bc}	2.20±0.40 ^c	1.69±0.31 ^a
<i>T1</i>	0.18±0.03 ^c	0.96±0.17 ^b	0.84±0.15 ^b	2.15±0.39 ^a	3.15±0.57 ^b	0±0 ^{ab}	2.51±0.45 ^a
<i>T2</i>	2.48±0.45 ^a	1.37±0.25 ^a	3.19±0.58 ^a	1.40±0.25 ^b	1.37±0.25 ^a	2.48±0.45 ^a	3.06±0.56 ^a
<i>T3</i>	1.19±0.21 ^{bc}	1.08±0.19 ^{ab}	1.22±0.22 ^{ab}	1.30±0.23 ^{ab}	2.67±0.48 ^c	1.19±0.21 ^{bc}	1.55±0.28 ^a
<i>T4</i>	1.69±0.30 ^b	1.67±0.30 ^{ab}	1.77±0.32 ^{ab}	1.32±0.24 ^b	2.92±0.53 ^{bc}	1.49±0.27 ^{bc}	1.52±0.27 ^a

***NH** (Numero de hojas), **NR** (Numero de raíces), **LR** (Longitud de raíz), **LH** (Longitud de Hipocótilo), **LE** (Longitud de explante), **NN** (Numero de nudos), **LT** (Longitud de tallo).
+En la table se representan las medias con su desviación estándar, las diferentes letras entre columnas indican diferencias significativas con la prueba LSD (P < 0.05).

Por otro lado, en lo que respecta a la longitud del explante, el tratamiento que mostró la mayor medida fue el T0 (Luz blanca) con un valor de 3.81. Le siguió el tratamiento T1 (Oscuridad) con una medida de 3.15. A continuación, el T4 (Luz morada) registró un valor de 2.92, seguido por el T3 (Luz Azul) con una medida de 2.67. Finalmente, el tratamiento T2 (Luz Roja) presentó la medida más baja.

En el parámetro del número de nudos (NN), se observaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, siendo el tratamiento T1 (Oscuridad) el que mostró un valor menor.

Finalmente, en el parámetro de longitud de tallo (LT), el tratamiento T2 (Luz Roja) exhibió el valor más alto, alcanzando 3.06, seguido de cerca por el tratamiento T1 (Oscuridad) con un valor de 2.51. A continuación, se ubicó el tratamiento T0 (Luz Blanca) con un valor de 1.69, seguido por el tratamiento T3, que presentó un valor de 1.55. Por último, el tratamiento T4 registró el valor más bajo, con 1.52. Ver tabla 7.8.

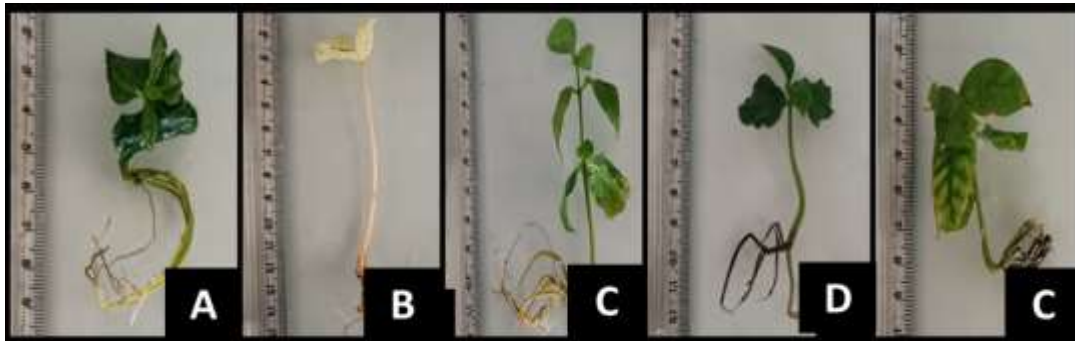


Figura 4 Efectos de la calidad de luces en el desarrollo de plántulas de café en condiciones in vitro a los 90 días de cultivo

(A-E). Tratamiento 1, longitud de luz blanca (A); Tratamiento 2, oscuridad (B), Tratamiento 2, longitud de luz roja (C), Tratamiento 3, longitud de luz azul (D) y tratamiento 4, longitud de luz violeta (E).

6.2 Porcentaje de germinación de semillas de café sometidas a filtrados de *Trichoderma sp.*

En cuanto al porcentaje de germinación, se tomaron las evaluaciones durante 42 días, cada 2 semanas.

En el día 15, el tratamiento que presentó un mayor porcentaje de germinación fue T10 (T8LE21), con un porcentaje del 11.33, seguido de este tratamiento se encuentra T7 (T5TC), con un valor de 10.33%, y el tratamiento que presentó un menor porcentaje de germinación fue T1 (CONTROL), con un valor de 3.33%, con diferencias significativas.

En cuanto al día 29, el tratamiento T10 (T0LE116), presento un valor de 31.66%, siendo el que presento mayor porcentaje. Seguido de este tratamiento se encuentra T4 (T2LE47), con un valor de 31%, el tratamiento menor fue el T1 (CONTROL), con un porcentaje de 21%.

Tabla 8 Porcentaje de germinación de semilla de café en filtrados de *Trichoderma sp* (Porcentaje de germinación hasta al día 42

		Días	15	22	29	35	42
	[%]	T	G (%)	G (%)	G (%)	G (%)	G (%)
Control	0	T1	3.33±0.33f	12.33±0.33g	21±0.00h	26.66±0.33f	28±0.57c
TC	25	T2	5.33±0.33e	27.33±0.33ef	29.66±0.33d	29.66±0.33d	30.33±0.33b
T1LE59	25	T3	6.33±0.33d	30.66±0.33b	32±.00a	32±0.00a	32±0.00a
T2LE47	25	T4	8.33±0.33c	28±0de	31±0.00bc	31±0.00bc	32±0.00a
T3LE116	25	T5	7.67±0.33c	26.66±0.33f	26.66±.33f	25.33±0.33g	25.33±0.33d
T4LE21	25	T6	7.67±0.33c	29.33±0.33c	29.66±0.33d	30.33±0.33cd	30.33±0.33b
T5TC	50	T7	6.33±0.33d	28.66±0.33cd	28.66±0.33e	28.66±0.33e	32±0.00a
T6LE59	50	T8	4±0f	29±0.33c	25.33±0.33g	25.33±0.33g	31.66±0.33a
T7LE47	50	T9	10.33±0.33b	28±0.00de	30.33±0.33cd	30.33±0.33cd	31.66±0.33a
T8LE116	50	T10	11.33±0.33a	26.66±0.33f	31.66±0.66ab	31.66±0.33ab	30.66±0.33b
T9LE21	50	T11	10±0b	32±0.00a	29.66±0.33d	32±0.00a	32±0.00a

En la tabla se representan las medias con su desviación estándar, las diferentes letras entre columnas indican diferencias significativas con la prueba LSD (P < 0.05).

En el día 42, los tratamientos que presentaron un mayor porcentaje de germinación fueron, T1LE59 (25%), T2LE47 (25%), T5TC (50%), T9LE21 (50%), con un porcentaje del 32%, sin diferencias significativas.

6.2.1 Desarrollo de plantas de café tratadas con filtrado de *Trichodermas sp.*

En cuanto a la etapa de desarrollo de la plántula, se realizó dos evaluaciones, partir del día 140 en condiciones de invernadero, en donde se tomaron encuentra los siguientes parámetros; Longitud de hipocótilo, longitud de raíz principal, longitud de explante, numero de hojas, longitud de tallo, además se tomó el peso seco y fresco a 15 plántulas de cada experimento.

En cuanto a la longitud de hipocótilo (H), el tratamiento que presento mayor porcentaje fue T7LE47 (50%), con un porcentaje de 6.34, seguido de este

tratamiento se encuentra T6LE59 (50%) con un 6%, el tratamiento que presento menor porcentaje fue T3LE116 (25%), con un 4.73%, el control que no presentaba ningún tratamiento sorprendentemente presento un 5.85%, más que el tratamiento anterior, que si contenía filtrado de *Trichoderma sp.* A comparación con todos los tratamientos presentaron diferencias significativas entre ellos.

En cuanto a la longitud de raíz principal (LR), el tratamiento T8LE116 (50%), presento el porcentaje mayor, con un 13.47, en seguida de este tratamiento, se encuentra T9LE21 (50%) con un 8.97%, los tratamientos T1LE59 (25%) y T2L347 (25%), presentaron el mismo porcentaje con un 8.23%, sin diferencia significativas. El tratamiento que obtuvo el menor porcentaje fue T3LE116 (25%), con un 5.35%.

Por otra parte, en el parámetro de longitud de explante (LE), el tratamiento que presento un mayor porcentaje, a comparación a los otros tratamientos T8LE116(50%), por otra parte, está el tratamiento T9LE21 (50%), con un porcentaje de 16.13. El tratamiento que presento un menor porcentaje es el T3LE116 (25%), con un valor del 10.43%.

En cuanto al número de hojas (NH), el tratamiento T7LE47, presenta un 2.67%, obteniendo el mayor porcentaje, seguido de este se presentan los tratamientos T3LE116 (25%) y T5TC (50%), con un porcentaje de 0.53%. en cuanto a los tratamientos T4LE21 (25%) y T9LE21 (50%), no presentaron durante el tiempo de evolución hojas.

En seguida, en el parámetro de longitud de tallo (LT), los tratamientos T1LE59 (25%) y T2LE47 (25%), presento le mismo porcentaje de 7.29%, sin diferencias significativas. Seguido de estos dos tratamientos se encuentra T7LE47 (50%), con un 6.81%, el tratamiento que presenta un menor porcentaje fue el tratamiento TC (25%), con un porcentaje del 5.50.

Finalmente, en el parámetro de emergencia, se tomó en cuenta porque se presentaban plántulas que aún no abrían cotiledones abiertos. Los tratamientos que presentaban mayor porcentaje de emergencia, son los que podemos considerar que no se presentó mayor desarrollo, y estos tratamientos son, T4LE21 (25%), T6LE59

(50%), T7LE47 (50%) T7LE47 (50%), T5TC (50%), con los siguientes valores respectivamente 0.47, 0.13, 0.07%.

Tabla 9 Desarrollo de plántulas con el filtrado de *Trichoderma sp*

T1	[%]	T	H	LR	LE	NH	LT	E
control	0	T1	5.85±0.23abc	7.93±0.53bc	15.01±0.49bc	0.47±0.22bcd	6.01±0.21BC	0.00±0.00b
TC	25	T2	5.37±0.22c	8.02±0.46bc	13.73±0.53cd	0.33±0.19bcd	5.50±0.26C	0.00±0.00b
T1LE59	25	T3	5.35±0.25cd	8.23±0.71b	12.68±1.20d	2.67±0.25a	7.29±0.56a	0.00±0.00b
T2LE47	25	T4	5.35±0.25cd	8.23±0.71b	12.68±1.20d	2.67±0.25a	7.29±0.56a	0.00±0.00b
T3LE116	25	T5	4.73±0.30d	5.73±0.47e	10.43±0.61e	0.53±0.24bc	5.70±0.81bc	0.07±0.07b
T4LE21	25	T6	5.37±0.15bc	7.73±0.41bcd	13.73±0.60cd	0.00±0.00d	5.63±0.16c	0.47±0.13a
T5TC	50	T7	5.51±0.22bc	6.53±0.54cde	12.63±0.73d	0.53±0.24bc	5.67±0.26c	0.07±0.07b
T6LE59	50	T8	6.00±0.16ab	6.17±0.41de	11.82±0.44de	0.00±0.00d	5.56±0.25c	0.13±0.09b
T7LE47	50	T9	6.34±0.19a	7.37±0.52bcde	13.77±0.56cd	0.67±0.25b	6.81±0.40ab	0.13±0.09b
T8LE116	50	T10	5.81±0.22abc	13.47±0.92a	20.13±0.90a	0.13±0.90cd	6.43±0.21abc	0.07±0.07b
T9LE21	50	T11	5.71±0.25bc	8.97±0.66b	16.13±0.79b	0.00±0.00d	6.13±0.17bc	0.00±0.00b

H. hipocotilo; LR. Longitud de raíz; LE. Longitud del explante; NH. Número de hoja; LT. Longitud de tallo; Emer. Emergencia

En la tabla se representan las medias con su desviación estándar, las diferentes letras entre columnas indican diferencias significativas con la prueba LSD (P < 0.05).

6.2.2 Peso fresco y seco.

Se tomo el peso seco y fresco de 15 plantas de café de cada tratamiento, los resultados indicaron variaciones significativamente entres estos dos parámetros.

El tratamiento que presento mayor peso seco y fresco fue LE47 50%, con los siguientes valores 1.14 para peso fresco y 0.18 para peso seco, seguido de este tratamiento se encuentra LE47 25%, con los siguientes valores de peso fresco y seco, 1.10 y .20, respectivamente. Finalmente, el tratamiento que presento valores menores encuentro a estos dos parámetros, fue LE116 50%, con valores de 0.79 para peso fresco y 0.13 para peso seco.

Tabla 10 Peso fresco y seco de plántulas de filtrado de *Trichoderma sp*

	PF	PS
	[g]	[g]
CONTROL	0.69±0.06bc	0.11±0.01cd
TC 25%	0.83±0.14abc	0.12±0.02abcd
TC 50%	1.00±0.08ab	0.17±0.04abc
LE 21 25%	0.86±0.17abc	0.16±0.01abcd
LE 21 50%	0.54± 0.19c	0.12±0.02bcd
LE 47 25%	1.10±0.19ab	0.20±0.04ab
LE 47 50%	1.14±0.18a	0.20±0.04ab
LE 59 25%	0.68±0.07bc	0.09±0.01d
LE 59 50%	0.96±0.09abc	0.16±0.01abc
LE 116 25%	0.90±0.16abc	0.15±0.01abcd
LE 116 50%	0.79±0.22abc	0.13±0.04 abcd

**Peso seco y fresco del experimento del filtrado de *Trichoderma sp*.
PS (Peso seco). PF (Peso fresco)**

6.3 Infección de roya en plantas de café en condiciones *in vitro*.

Se realizaron evaluaciones cada 15 días después de la inoculación durante 2 meses, a los 15 días se comenzó a apreciar pequeñas lesiones de color café, a los días posteriores las lesiones crecieron un poco y comenzó a aparecer clorosis en un muy pocas hojas de café.

Los parámetros que se evaluaron fueron; número de hojas enfermas, defoliación, incidencia y severidad de la enfermedad.

Los controles mostraron, un porcentaje de defoliación menor a comparación con los tratamientos restantes y una nula incidencia de la enfermedad. Seguido de los controles se encuentra T1-S (1×10^2 en sustrato), donde presento un valor del 7.61 y el tratamiento que presento un porcentaje mayor de defoliación fue T3 (1×10^4 en MS-S), con un valor del 20.82 y entre todos los tratamientos presentaron diferencias significativas.

En cuanto al parámetro de hojas enfermas, en los controles no se presentaron, y el tratamiento seguido de los controles fue el T2S (1×10^2 en sustrato), con un valor de 15.75 y el tratamiento que presento un mayor número de hojas enfermas fue el tratamiento T1S (1×10^2 en MS-S), con un 22.84.

En cuanto a la incidencia es el número de casos que presenta la enfermedad o la infección, el tratamiento que presenta un índice de la enfermedad alto es el tratamiento T1 (1X10² MS-S), con un índice de 41.66, y el mejor tratamiento que no presento demasiada incidencia de la enfermedad fueron los controles y el tratamiento T1S (1x10² en sustrato), con un índice de 16.66.

Tabla 11 Incidencia de la enfermedad (roya) en planta de café en condiciones *in vitro*

TRATAMIENTO	DEFOLIACION (%)	HOJAS ENFERMAS	AUDPC	INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD
C1	9.67±5.8bc	0±0b	0±0c	0
C1S	1.429±2.957d	0±0b	0±0c	0
T1	12.53±4.91bc	16.66±11a	67.8±65.3ab	41.66
T1S	7.61±5.79cb	22.84±21.5a	32.7±55.3	16.66
T2	15.8±6.99ab	21.91±17.3a	62±53.2b	31.66
T2S	11.27±5.32bc	15.75±8.09a	51±49.7b	21.66
T3	20.82±22.7a	17.4±11.62a	103.1±42.3a	25
T3S	15.06±8.06ab	19.48±11.44a	98.5±75.5a	25

Los valores presentados son medias con desviación estándar, los valores con la misma letra son estadísticamente iguales al nivel de confianza de LSD-Fisher (P<0.05).

6.4 Efectividad del control biológico (*Trichoderma sp.*) de roya de café

Los tratamientos que presentaron menor incidencia de la roya fueron los tratamientos con las cepas LE21 y LE47. En el caso de la cepa LE21 de *Trichoderma sp.* fue el que presentó el menor porcentaje de incidencia de la enfermedad, observándose que solo el 36.67% de las plantas mostraron síntomas severos de roya y el resto de las plantas del tratamiento no presentaron síntomas (63.33%), sin embargo, cabe aclarar que debido a que las plantas enfermas en este tratamiento presentaron síntomas severos, afecto la media estadística de los otros parámetros (% Defoliación, % Hojas enfermas y AUDPC). En el caso del tratamiento con la cepa LE47 presentó un 76.67% de plantas enfermas y un 23.33% de plantas sanas. Mientras que en los otros tratamientos se presentaron un porcentaje mayor a 89% de incidencia de la enfermedad, Tabla 12.

Tabla 12. Incidencia de la enfermedad de roya en plantas de café a los 90 días

Tratamiento	Defoliación (%) *	Hojas enfermas (%) *	AUDPC *	Incidencia de la enfermedad (%) *
C1	6.61 ± 14.3b	0b	0b	0.00
HV	5.54 ± 6.28b	31.88 ± 9.15a	191.67 ± 29.79a	90.00
LE47	4.30 ± 7.06b	25.36 ± 16.87ab	147 ± 64a	76.67
LE59	2.24 ± 3.91b	31.81 ± 17.63a	153 ± 51.9a	93.33
LE116	7.26 ± 9.73b	38.66 ± 25.99a	171 ± 32.6a	96.67
LE21	47.6 ± 45.6a	45.7 ± 39.3a	150 ± 103.2a	36.67

En cuanto a la sintomatología de la roya a través del tiempo, se puede observar en la figura 5, la afectación de la enfermedad en el tratamiento HV cada 30 días, hasta el día 90, mientras que en el caso de los tratamientos con las cepas LE21 y LE47 se puede observar la protección que proporcionan estas cepas de *Trichoderma sp.* contra la roya de café.

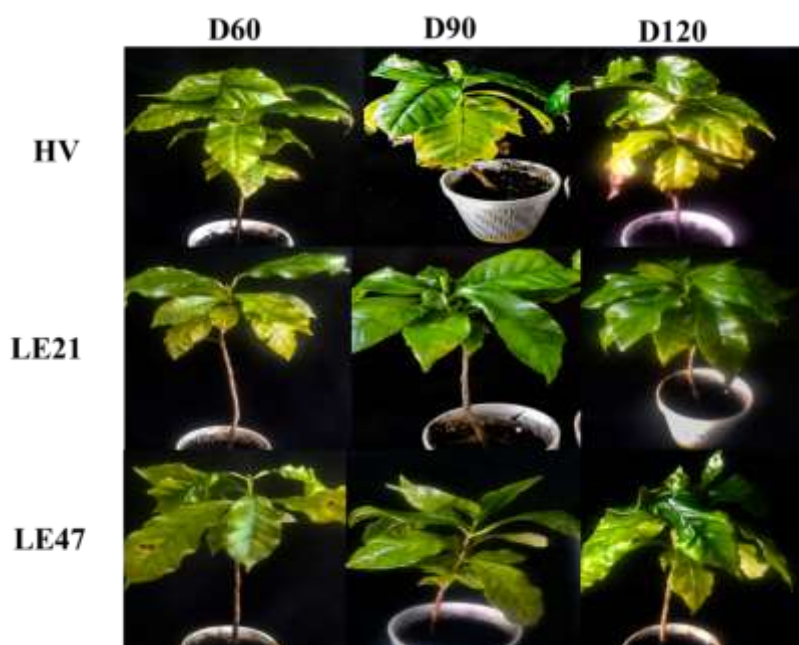


Figura 5 Protección de cepas de *Trichoderma sp.* contra la roya del café.

VII Conclusiones.

La propagación de plantas es una actividad de suma importancia ya que se puede conservar más especies vegetales, pero para ellos se necesitan diversas estrategias, como el uso de diferentes calidades de luz visible y el uso de microorganismo que estimulen su crecimiento.

En cuanto al experimento de la calidad de luz visible, demostró que dos tratamientos mostraron un porcentaje de germinación idéntico, los cuales fueron T0 (Luz Blanca) y T4 (Luz morada), y en cuanto al desarrollo de la planta se puede considerar el tratamiento T2 (Luz roja), ya que presento un porcentaje de numero de hojas mayor a comparación de los otros tratamientos, y para el desarrollo es de gran importancia la cantidad de hojas que presenta la planta.

Por otra parte, en el experimento del uso de diferentes filtrados de *Trichoderma sp*, se puede mencionar que la gran mayoría de los parámetros que se evaluaron, tuvieron mayor porcentaje en cepas que contenían una concentración del 50%, por lo tanto, se considera para siguientes investigaciones el uso de filtrados de *Trichoderma sp* a una concentración mayor (50%).

En consecutiva en el estudio de la infección de la roya en plantas in vitro de café, se detectó que los mejores tratamientos, que no presentaron signos de la enfermedad fueron aquellos, que se presentaban a una menor concentración de uredinosporas (1×10^2), así como los tratamientos presentes en sustrato estéril.

Finalmente, en el experimento de efectividad biológica se observó que el LE21 y LE47 presentaron un grado de protección contra la roya del café, de acuerdo con la escala SENASICA, en la mayoría, no se presentaron diferencias significativas, pero si se observó una disminución importante en la incidencia de la enfermedad.

VIII Referencias bibliográficas

- Café, P. (s. f.). *6 enfermedades más comunes del cafeto*. Primero Café. Recuperado 17 de octubre de 2023, de [%206%20Mal%20del%20talluelo%20%28Rhizoctonia%20solani%29%20capitulo 27 Propagacion in vitro del cafe](https://primerocafe.com.mx/caficultura/6-enfermedades-mas-comunes-cafeto/#:~:text=6%20enfermedades%20m%C3%A1s%20comunes%20del%20cafe%201%20Roya,). (s. f.). Cultivos de tejidos en la agricultura. Recuperado 31 de octubre de 2023, de <https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Cultivo%20de%20Tejidos%20en%20la%20Agricultura/capitulo27.pdf> (Hernández *et al.*, 2021). Agentes de control biológico de la roya del café ¿Cómo funcionan y qué tan efectivos son? *1Centro de Investigación en Sustentabilidad y Biotecnología Ambiental Montecristo (CISBAM), Mesa del barro sn. Jalcomulco, Veracruz, México. 2Centro de Investigación en Micología Aplicada, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México. 3Universidad Politécnica de Huatusco, Huatusco de Chicuellar, Veracruz, México*. Recuperado 24 de octubre de 2023, de <https://smbb.mx/wp-content/uploads/2021/05/Hernandez-et-al.-2021.pdf>
- De Agricultura Y Desarrollo Rural, S. (s. f.). *Cultivo de café en México*. gob.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/cultivo-de-cafe-en-mexico>
- Lista de especies de galápagos*. (s. f.). Fundación Charles Darwin. <https://www.darwinfoundation.org/es/datazone/checklist?species=716>
- MANUAL PARA LA PROPAGACIÓN DEL CAFETO EN PUERTO RICO*. (2018, septiembre). Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez Colegio de Ciencias Agrícolas SERVICIO DE EXTENSIÓN AGRÍCOLA. Recuperado 17 de octubre de 2023, de <https://www.uprm.edu/wp-content/uploads/sites/292/2020/01/Portada-Manual-de-Propagaci%C3%B3n-2018F-merged.pdf>

Margarita, F. M. A. (2015). *Propagación vegetativa de café nacional (Coffea arábica), con el uso de hormonas estimulantes del enraizamiento ana y aib en el canton Buena Fe*. Recuperado 31 de octubre de 2023, de <https://repositorio.uteq.edu.ec/items/577e10a5-b3eb-4165-8c58-2b92c2d2b592>

Protocolo de Diagnóstico: Hemileia vastatrix (Roya del cafeto). (2018, julio). Dirección general de sanidad vegetal. Recuperado 24 de octubre de 2023, de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/723687/11._Protocolo_Hemileia_vastatrix_V.1_Pub.pdf

Roya del cafeto. (2019, mayo). sader. Recuperado 24 de octubre de 2023, de http://www.cesavep.org/descargas/RDC/Ficha_Tecnica_Roya_del_cafeto.pdf

Ventas. (2021, 17 septiembre). *¿Por qué es importante la producción de café en México? - Café la organización*. Café La Organización. <https://cafelaorganizacion.mx/por-que-es-importante-la-produccion-de-cafe-en-mexico/>

Protocolo de Diagnóstico: Hemileia vastatrix (Roya del cafeto). (2018, julio). Dirección general de sanidad vegetal. Recuperado 24 de octubre de 2023, de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/723687/11._Protocolo_Hemileia_vastatrix_V.1_Pub.pdf

TRICHODERMA SPP. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES. (2015). IICA. Recuperado 7 de noviembre de 2023, de <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2647/BVE17038725e.pdf;jsessionid=DB563F687EA1931DCE5927688F247DBE?sequence>