



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

## Cepas y dosis de rizobios influyen en la germinación y el crecimiento del café en el pre-germinador

### Strains and doses of rhizobia influence germination and growth of coffee plants in the pre-germinator

Sucleidi Nápoles Vinent<sup>1\*</sup>, Edaniel Gallardo Acosta<sup>2</sup>, Adaris Rivera Zorrilla<sup>1</sup>, Ionel Hernández Forte<sup>3</sup>,  
 María Caridad Nápoles García<sup>3</sup>, Belkis Morales Mena<sup>3</sup>, Jorge González Aguilera<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Oriente, Avenida de las Américas S/N, Santiago de Cuba 90100, Cuba

<sup>2</sup>Empresa Agroforestal de Tercer Frente, San Rafael S/N Cruce de los Baños Tercer Frente, Santiago de Cuba 90100, Cuba

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, San José de las Lajas, carretera de Tapaste, Mayabeque, Cuba

<sup>4</sup>Universidade Federal do Mato Grosso do Sul-Câmpus de Chapadão do Sul-Rod MS 306, km 105, Caixa Postal 112 Chapadão do Sul/MS, CEP 79560-000, Brasil

#### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido: 24/08/2021

Aceptado: 15/03/2022

#### CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no existir conflictos de intereses.

#### CORRESPONDENCIA

Sucleidi Nápoles Vinent  
[sucleidis@uo.edu.cu](mailto:sucleidis@uo.edu.cu)



Cu-ID: <https://cu-id.com/2153/cag013222369>

#### RESUMEN

El empleo de rizobios promotores del crecimiento vegetal es una alternativa de interés para estimular el desarrollo del café en la fase de pre-germinador, en el contexto de una agricultura sostenible. El objetivo de este trabajo fue evaluar la inoculación de cepas y dosis de rizobios en el café en condiciones de canteros pre-germinadores. Fueron empleados los cultivares 'Isla 5-15' (*Coffea arabica* L.) y 'Robusta' (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner). Se utilizó un diseño completo al azar con arreglo factorial 3×3 con un tratamiento adicional (control sin rizobio), empleando como factores tres cepas (*Rhizobium* sp. Rpd16, *Rhizobium* sp. C1 y *Bradyrhizobium elkanii* ICA 8001) y tres dosis de aplicación (0,1; 0,5 y 1,0 mL por semilla). El experimento fue realizado en dos fases: durante la germinación y el desarrollo de las semillas. Se evaluó el porcentaje de emergencia (PE), índice de emergencia (IE) e índice de velocidad de emergencia (IVE) de la semilla en la primera fase. En la segunda fase se evaluó la altura de plántula (AP) y la longitud de raíz (LR). La combinación de cepas y dosis de rizobios influyen en los dos cultivares en la fase de germinación y manifiestan poco efecto en la fase de crecimiento en condiciones de pre-germinadores. Las cepas que mejor respuesta manifestaron en las dos cultivares fueron *Rhizobium* sp. (Rpd16) y *B. elkanii* (ICA 8001). Las dosis tuvieron efectos apenas en la fase de germinación y fueron dependientes de las cepas evaluadas en los diferentes índices. Estos resultados sugieren el empleo de cepas de rizobios para el manejo integrado del café en su estadio inicial.

**Palabras clave:** *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, emergencia, rizobacterias, semilla

**ABSTRACT**

The use of plant growth promoting rhizobia is an interesting alternative to stimulate the development of coffee plants in the pre-germination phase, in the context of sustainable agriculture. The objective of this work was to evaluate the inoculation of strains and doses of rhizobia in coffee plants in pre-germination beds. The cultivars 'Isla 5-15' (*Coffea arabica* L.) and 'Robusta' (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner) were used. A complete randomized design with a 3x3 factorial arrangement was used with an additional treatment (control without rhizobia), using three strains (*Rhizobium* sp. Rpd16, *Rhizobium* sp. C1 and *Bradyrhizobium* elkanii ICA 8001) and three application rates (0.1, 0.5 and 1.0 mL per seed) as factors. The experiment was conducted in two phases: during germination and seed development. The percentage of emergence (PE), emergence index (EI) and emergence velocity index (EVI) of the seed were evaluated in the first phase. In the second phase, seedling height (PA) and root length (RL) were evaluated. The combination of strains and rhizobia doses influenced the two cultivars in the germination phase and showed little effect in the growth phase under pre-germination conditions. The strains that showed the best response in the two cultivars were *Rhizobium* sp. (Rpd16) and *B. elkanii* (ICA 8001). The doses had effects only in the germination phase and were dependent on the strains evaluated in the different indices. These results suggest the use of rhizobial strains for the integrated management of coffee plants in their initial stage.

**Keywords:** *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, emergence, rhizobacteria, seed

**INTRODUCCIÓN**

El café es un producto ampliamente consumido que desempeña un papel importante en la economía mundial, especialmente para los países en la línea ecuatorial (Subit *et al.*, 2020). La producción mundial total fue de 168 678 mil sacos de 60 kg de granos de café en 2019/2020, con una proyección de crecimiento de 1,9 % en 2020/2021 (OIC, 2021). La producción de café se basa fundamentalmente en las especies *Coffea arabica* L., que representa el 60,4 %, seguida de *Coffea canephora* Pierre ex Froehner, que representa el 39,6 % restante, según datos de OIC (2021).

Cuba es uno de estos países que cultiva el café y en la estructura agraria cubana constituye uno de los cultivos tradicionales. En la actualidad representa un rubro exportable de significativa importancia económica, de alta demanda por los consumidores nacionales y la base fundamental de la economía en las zonas montañosas (Vasallo, 2019).

En Cuba, el 65 % de las áreas existentes son de *C. arabica* y el 35 % de *C. canephora* (Subit *et al.*, 2020). Sin embargo, en los últimos años el volumen de café producido con fines exportables ha disminuido, estando relacionado con las dificultades que afronta el sector cafetalero en Cuba. En este contexto, Díaz *et al.* (2021) refieren que entre las principales causas esta la mala calidad de las plántulas, debido a la poca uniformidad de estas en su talla, entre otros factores.

La producción de plántulas de baja calidad en los viveros es una de las etapas que influye en el volumen de café producido (Encalada *et al.*, 2018). Esto obliga a buscar métodos que permitan lograr posturas de calidad superior desde la etapa inicial en vivero y que promuevan una mejor adaptación a las condiciones adversas al ser llevadas a campo definitivo (Guevara *et al.*, 2021).

Otro problema que enfrenta la caficultura es que la semilla germina lentamente en forma asincrónica, con baja tolerancia a la desecación y tiene una longevidad reducida (De Farías *et al.*, 2015). Esto provoca pérdida de la viabilidad de la semilla y, por consiguiente, se dificulta la obtención de plántulas con elevados estándares de calidad (Castanheira *et al.*, 2013). Para aumentar la germinación de las semillas de café, generalmente es necesario invertir en la adopción de métodos químicos y mecánicos, lo que indudablemente atenta contra la eficiencia y eficacia del proceso productivo (Coa *et al.*, 2014).

El empleo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), como parte del manejo integrado del cultivo del café, puede ser una solución a la problemática previamente planteada. Se ha demostrado que la inoculación de cepas de *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Kocuria* sp., y *Bacillus subtilis* en plantas de café promueven un incremento significativo de la biomasa vegetal (Cisneros *et al.*, 2017). Blanco *et al.* (2018) informaron aislados rizobianos autóctonos que incrementaron la germinación de semillas, así como el crecimiento del pimentón (*Capsicum annuum* L.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.) en fase de semillero. A su vez, Bécquer *et al.* (2018) mostraron el efecto superior en la germinación y desarrollo incipiente de *Moringa oleifera* Lam con cepas nativas de rizobios.

Los rizobios son considerados BPCV porque producen un efecto beneficioso en el crecimiento vegetal, a partir de mecanismos que permiten incrementar la disponibilidad de nutrientes para la planta y por el efecto fitoestimulante de algunas hormonas que producen (Jiménez *et al.*, 2018). Este último atributo se ha empleado para la elaboración de bioproductos que permiten incrementar el crecimiento y el desarrollo de cultivos de importancia económica. Tal es el caso del Bioenraiz®, cuya aplicación en semillas de *C. arabica* cv. 'Caturra rojo' produjo un incremento

significativo de la germinación (González *et al.*, 2015). Por otra parte, aunque ya se han reportado resultados en condiciones de vivero (Nápoles *et al.*, 2021), se desconoce el efecto de la inoculación de cepas de rizobios en el crecimiento de *C. arabica* cv. 'Isla 5-15' y *C. canephora* cv. 'Robusta'. Teniendo en cuenta lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la inoculación de cepas y concentraciones diferentes de rizobios durante el proceso de obtención de plántulas de café *C. arabica* cv. 'Isla 5-15' y *C. canephora* cv. 'Robusta', en la fase de pre-germinador.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Condiciones experimentales

La investigación se desarrolló en la etapa del pre-germinador para el cultivo de café, durante la campaña 2018-2019 en el área experimental del Centro de Electromagnetismo Aplicado (CNEA), perteneciente a la Universidad de Oriente (UO). El mismo está ubicado en las coordenadas 20° 01' 49,8" N, 75° 48' 35,4" W, en el Municipio Cabecera, Santiago de Cuba.

### Material biológico

Se emplearon semillas de *C. arabica* cv. 'Isla 5-15' y *C. canephora* cv. 'Robusta', ambos recomendados por el Grupo Empresarial Agricultura de Montaña de Cuba (GEAM), por su alto potencial productivo. Las semillas de ambas especies se sembraron en canteros pre-germinadores (1,20 m de ancho x 20 m de longitud), que contenían arena de río como soporte. Las semillas se colocaron a 2,5 cm de profundidad, a una distancia de plantación de 1 cm, en surcos previamente separados a 5 cm y humedecidos con agua corriente. Las plántulas crecieron durante 55 días en condiciones de cultivo protegido a 28 °C, humedad relativa del 59 % y se regaron diariamente con agua corriente, garantizando una humedad adecuada.

### Tratamiento a la semilla

El tratamiento a las semillas se hizo empleando un diseño completamente aleatorizado en esquema factorial 3 x 3, con un tratamiento adicional (control sin inoculación). El primer factor fue tipo de inóculo con el empleo de tres cepas: *Rhizobium* sp. (Rpd16), *Rhizobium* sp. (C1) y *Bradyrhizobium elkanii* (ICA 8001). El segundo factor fueron tres dosis de cada una de las cepas empleadas (0,1, 0,5 y 1,0 mL). Cada tratamiento contó con tres repeticiones y para cada uno se utilizaron 25 semillas. Las cepas de rizobios empleadas fueron obtenidas en el cepario perteneciente al Laboratorio de Microbiología del Departamento de Fisiología y Bioquímica del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA).

En el momento de la siembra, las semillas previamente seleccionadas fueron embebidas en el inóculo por 1 h antes de realizar la siembra (Priya *et al.*, 2019) y las no inoculadas por el mismo tiempo, en agua (control). Para la obtención de los diferentes inóculos, se partió de pre-inóculos que se prepararon a partir de una asada de las cepas, conservadas en tubos con medio Levadura Manitol (LM) sólido (Vincent, 1970) a 4 °C, en frascos Erlenmeyer de 100 mL de capacidad, que contenían 10 mL del mismo medio de cultivo líquido. Los Erlenmeyer se incubaron en condiciones de agitación a 150 rpm y 28 °C, durante 20 h. Los pre-inóculos (10 mL) se emplearon para inocular Erlenmeyer de 500 mL de capacidad, que contenían 100 mL de medio LM estéril y se colaron en condiciones de crecimiento similares a las descritas anteriormente para los pre-inóculos. Después de crecer los inóculos fue evaluada su concentración y ajustada a  $1 \times 10^{10}$  UFC mL<sup>-1</sup>.

### Variables evaluadas en la investigación

El experimento se desarrolló en dos fases. En la primera que duró 30 días, se estudió el efecto promotor del crecimiento de las cepas de rizobios en el proceso de germinación del café. A partir de los registros en días alternos, se determinó el porcentaje de emergencia (PE) de la semilla (%), índice de emergencia (IE, plántulas día<sup>-1</sup>) y el índice de velocidad de emergencia (IVE, plántulas día<sup>-1</sup>) (Coa *et al.*, 2014).

En la segunda fase del ensayo con una duración de 25 días posteriores a la germinación, se determinaron variables relacionadas con el crecimiento de las plántulas. En este momento, se seleccionaron 15 plántulas y se les determinó la altura de la plántula (AP, cm) y la longitud de la raíz (LR, cm).

### Análisis estadísticos

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) y, cuando fue significativa, las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey al 5 %, utilizando el Programa estadístico Rbio (Bhering, 2017) y los gráficos se generaron en SigmaPlot 11.0 para Windows (Systat Software, Inc., San José, CA, EE. UU.), para presentar e interpretar mejor los datos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la presente investigación se determinó el efecto de la inoculación de cepas y dosis de rizobios en algunos indicadores de crecimiento del café cv. 'Isla 5-15' y 'Robusta', empleados frecuentemente como injerto y portainjerto, respectivamente (Nápoles *et al.*, 2021). Los resultados mostraron que al evaluar índices de emergencia para las dos cultivares, interacciones altamente significativas ( $p < 0,001$ ) son obtenidas en las tres variables (IE, IVE y PE)

y comparados con el control (Factorial x Adicional) (Tabla 1).

Los resultados de los indicadores de crecimiento la ANOVA muestran la misma respuesta para la variable LR, independiente de las especies empleadas, mostrándose ausencia de interacción entre los factores, con diferencias altamente significativas en el factor cepas ( $p < 0,001$ ), así como, para la comparación establecida entre el Factorial x Adicional (Tabla 1). Para AP, los factores individuales y combinados no mostraron significancia estadística en *C. arabica* cv. 'Isla 5-15', aunque, el Factorial x Adicional evidenció diferencias altamente significativas ( $p < 0,001$ ). Para *C. canephora* cv. 'Robusta', la variable AP apenas manifestó diferencias significativas para el factor Cepas ( $p < 0,001$ ).

Al comparar el tratamiento control (Adicional) con el Factorial se observó que los índices de emergencia IE y IVE para las dos cultivares mostraron la misma respuesta

(Tabla 2), con efectos superiores del Factorial (Cepas x Dosis) en relación al control indicando, así que los rizobios estimulan el proceso de germinación del café. Al evaluar el índice PE se manifestó una respuesta contrastante de los cultivares, observándose que para *C. arabica* cv. 'Isla 5-1' la ausencia de rizobios manifestó una mejor respuesta en este índice, mientras que para *C. canephora* cv. 'Robusta' fue lo contrario, manteniendo el efecto evidenciado en los índices IE y IVE, siendo el Factorial superior al Adicional (Tabla 2). Para los indicadores de crecimiento en *C. arabica* cv. 'Isla 5-15', la comparación entre el tratamiento Adicional y el Factorial muestran también superioridad del tratamiento Adicional para las dos variables (AP y LR), indicando que estas variables no fueron influenciadas por los factores evaluados.

Los resultados cuando se consideran las interacciones significativas entre los dos factores son mostrados en la tabla 3. En *C. arabica* cv. 'Isla 5-15' para los índices IE y IVE

**Tabla 1.** Análisis factorial del índice de emergencia e indicadores de crecimiento en los cv. 'Isla 5-15' y 'Robusta', inoculados con tres cepas y dosis de rizobios en condiciones de pre-germinador. \*\*\*, \*\*, \* y ns indican interacción significativa y ausencia de significancia para  $p < 0,001$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$  por el test F del ANOVA, respectivamente

Factores	Índices de emergencia		Indicadores de crecimiento		
	IE <sup>1</sup> (plántulas día <sup>-1</sup> )	IVE (plántulas día <sup>-1</sup> )	PE (%)	AP (cm)	LR (cm)
<i>C. arabica</i> cv. 'Isla 5-15'					
Cepas	0,69***	16,88 ***	270,33***	0,23 <sup>ns</sup>	39,95***
Dosis	20,42***	1074,38***	244,78***	0,87 <sup>ns</sup>	3,30 <sup>ns</sup>
Cepas * Dosis	6,49 ***	290,87***	37,8***	0,86 <sup>ns</sup>	4,35 <sup>ns</sup>
Factorial x Adicional <sup>1</sup>	6,89***	149,47***	58,8***	12,84***	19,44**
<i>C. canephora</i> cv. 'Robusta'					
Cepas	758,86 ***	910,97 ***	455,26***	21,24***	48,47 ***
Dosis	2,67 ***	56,43 ***	350,04***	0,15 <sup>ns</sup>	1,02 <sup>ns</sup>
Cepas * Dosis	41,15 ***	41,98 ***	191,93***	1,68 <sup>ns</sup>	3,67 <sup>ns</sup>
Factorial x Adicional <sup>1</sup>	41,05 ***	8,40 **	68,50***	0,71 <sup>ns</sup>	27,08 ***

<sup>1</sup>Adicional: tratamiento control sin inoculación de rizobios; <sup>2</sup>IE PE: Porcentaje de emergencia; IVE: índice de velocidad de emergencia; AP: Altura de la plántula; LR: Longitud de la raíz

**Tabla 2.** Comparaciones del Factorial y el tratamiento adicional (control sin inoculación) obtenido al evaluar los índices de emergencia e indicadores de crecimiento en cv. 'Isla 5-15' y 'Robusta', inoculados con tres cepas y dosis de rizobios en condiciones de pre-germinador. Letras diferentes en la columna representan diferencias significativas por el test F del ANOVA

Contrastes	Índices de emergencia			Indicadores de crecimiento	
	IE <sup>1</sup> (plántulas día <sup>-1</sup> )	IVE (plántulas día <sup>-1</sup> )	PE (%)	AP (cm)	LR (cm)
<i>C. arabica</i> cv. 'Isla 5-15'					
Adicional	2,74 b	18,72 b	92,33 a	4,90 a	6,98 a
Factorial	3,45 a	22,05 a	87,67 b	3,92 b	5,78 b
<i>C. canephora</i> cv. 'Robusta'					
Adicional	11,59 b	25,47 b	87,33 b	5,94 a	8,46 a
Factorial	13,34 a	26,26 a	92,37 a	6,17 a	7,04 b

IE<sup>1</sup>, PE: Porcentaje de emergencia; IVE: índice de velocidad de emergencia; AP: Altura de la plántula; LR: Longitud de la raíz

se manifestaron los mismos resultados cuando se compararon dentro de las diferentes dosis las tres cepas evaluadas. Para la menor dosis de 0,1 mL de rizobio, la cepa que manifestó los resultados superiores fue *B. elkani* (ICA 8001) con valores de 3,29 plántulas día<sup>-1</sup> y 21,12 plántulas día<sup>-1</sup> para IE y IVE, respectivamente. Por otro lado, al evaluar PE para este mismo cultivar, la dosis de 0,1 mL no manifestó diferencias entre las cepas empleadas y las otras dos dosis manifestaron igual respuesta, favoreciéndose esta variable siempre que se emplearon las cepas de *Rhizobium* sp. (Rpd16) y *Rhizobium* sp. (C1).

En *C. arabica* cv. 'Isla 5-15' para los índices IE, IVE y PE, se observó que al comparar en cada una de las cepas el efecto de las dosis aplicadas que, las combinaciones con dosis 0,5 mL de *Rhizobium* sp. (Rpd16) promueve los mejores valores para los tres índices evaluados (Tabla 3). Para la cepa *Rhizobium* sp. (C1), las mejores respuestas fueron con la mayor dosis empleada (1 mL). Para *B. elkani* (ICA 8001) la menor dosis (0,5 mL) fue la más eficiente en estimular los índices IE y IVE, entre tanto, para PE ninguna de las dosis se diferenció para esta cepa en *C. arabica* cv. 'Isla 5-15' (Tabla 3). Estos resultados muestran que la respuesta de las cepas es dependiente de las dosis empleadas.

En *C. canephora* cv. 'Robusta', al observar las interacciones obtenidas en los índices IE, IVE y PE, se puede afirmar que para IE y IVE la respuesta fue la misma con los mejores resultados, independiente de la dosis empleada, al emplear la cepa *Rhizobium* sp. (C1) (Tabla 3). El índice PE con las dosis 0,5 y 1,0 mL de *B. elkani* (ICA 8001) se favorece, en las semillas tratadas con esta combinación, con 99,33 y 100% de germinación, respectivamente. Cuando se evaluó en el mismo cv. 'Robusta' el efecto de las dosis dentro de cada una de las cepas, se observó que las cepas *Rhizobium* sp. (Rpd16) y *Rhizobium* sp. (C1), combinadas con la mayor dosis (1,0 mL) empleada, favorece que se alcancen los mayores valores en los tres índices evaluados. Para *B. elkani* (ICA 8001), la menor dosis (0,5 mL) fue la

más eficiente en estimular los índices IE y IVE, mostrando igual respuesta que *C. arabica* cv. 'Isla 5-15' (Tabla 3).

Los índices evaluados (IE, IVE y PE) en la fase de germinación de semillas de café están relacionados con la velocidad con que la planta germina y se desenvuelve en los primeros 30 días (Coa *et al.*, 2014). Los valores obtenidos fueron adecuados si se compara con Nápoles *et al.* (2021), que al evaluar estos dos cultivares obtuvieron un PE de 90 % para el cv. 'Isla 5-15' y 89 % para el cv. 'Robusta'. Para estos índices, las combinaciones de cepas y dosis fueron determinantes en la respuesta obtenida en cada uno de los cultivares empleados. De acuerdo con los resultados, se observó que puede existir una estrecha relación entre el contenido de metabolitos secundarios producidos por las bacterias, pues al incrementar las dosis de inoculación en la planta, se favorece PE, independiente de la cepa empleada. Asociado con esa respuesta, se puede afirmar que las cepas de rizobios proporcionan a las semillas AIA (ácido indol acético), que induce la división y alargamiento celular, y con eso se favorece el incremento del crecimiento de las plantas (Hassan y Bano, 2015).

Según Parray *et al.* (2016), el efecto positivo de la inoculación de algunas de las cepas de rizobios en el IVE de semillas de café pudiera deberse a la actividad fito-estimuladora de estas bacterias. Los resultados obtenidos para IVE en esta investigación, al aplicar las tres dosis en estudio, son superiores a lo informado por Bécquer *et al.* (2018). Estos autores aplicaron una dosis, 5 veces superior (5 mL) a la mayor (1,0 mL por semilla) empleada en el trabajo, de *Bradyrhizobium* spp. en el momento de la siembra de *Moringa oleífera* Lam en condiciones controladas con los aislados Ho9 (2,32 plantas día<sup>-1</sup>), JK5 (2,30 plantas día<sup>-1</sup>) y el testigo fertilizado (2,52 plantas día<sup>-1</sup>), lo que evidenció el efecto positivo que tiene las cepas empleadas en nuestro trabajo en el cultivo del café. Baset *et al.* (2012) comentan que el IVE determina el estado de salud de la plántula y finalmente el estado de productividad

**Tabla 3.** Índices de emergencia en los cv. 'Isla 5-15' y cv. 'Robusta', inoculados con tres cepas y dosis de rizobios en condiciones de pre-germinador. Letras minúsculas en la columna y mayúsculas en la línea representan diferencias estadísticas para la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

Cepas / Dosis	<i>C. arabica</i> cv. 'Isla 5-15'								
	IE (plántulas día <sup>-1</sup> )			IVE (plántulas día <sup>-1</sup> )			PE (%)		
	0,1 mL	0,5 mL	1,0 mL	0,1 mL	0,5 mL	1,0 mL	0,1 mL	0,5 mL	1,0 mL
<i>Rhizobium</i> sp. (Rpd16)	2,63 Cb	4,08 Aa	3,74 Bc	13,21 Cc	26,83 Aa	24,69 Bb	84,67 Ba	97,33 Aa	93,33 Aa
<i>Rhizobium</i> sp. (C1)	2,50 Cb	2,72 Bc	4,74 Aa	16,36 Cb	19,09 Bc	30,03 Aa	80,67 Ba	94,00 Aa	94,67 Aa
<i>Bradyrhizobium elkani</i> (ICA 8001)	3,29 Ba	3,41 Bb	3,98 Ab	21,12 Ba	21,97 Bb	25,13 Ab	79,67 Aa	82,00 Ab	82,67 Ab
	<i>C. canephora</i> cv. 'Robusta'								
	IE (plántulas día <sup>-1</sup> )			IVE (plántulas día <sup>-1</sup> )			PE (%)		
<i>Rhizobium</i> sp. (Rpd16)	9,42 Bc	9,34 Bc	11,24 Ab	19,49 Cc	21,28 Bc	24,24 Ac	75,33 Cc	81,67 Bb	99,00 Aa
<i>Rhizobium</i> sp. (C1)	17,64 Ba	16,37 Ba	19,75 Aa	29,79 Ba	29,52 Ba	32,69 Aa	95,33 Bb	81,33 Cb	100,00 Aa
<i>Bradyrhizobium elkani</i> (ICA 8001)	14,13 Ab	11,54 Bb	10,60 Bb	26,80 Ab	26,90 Ab	25,61 Bb	99,33 Aa	100,00 Aa	99,33 Aa

de la misma. Por lo tanto, un incremento en el IVE indica la disminución del tiempo para el establecimiento del semillero en condiciones controladas, incrementando la eficiencia del proceso, resultado similar al obtenido en esta investigación que corrobora la importancia del uso de los rizobios en esta fase para el café.

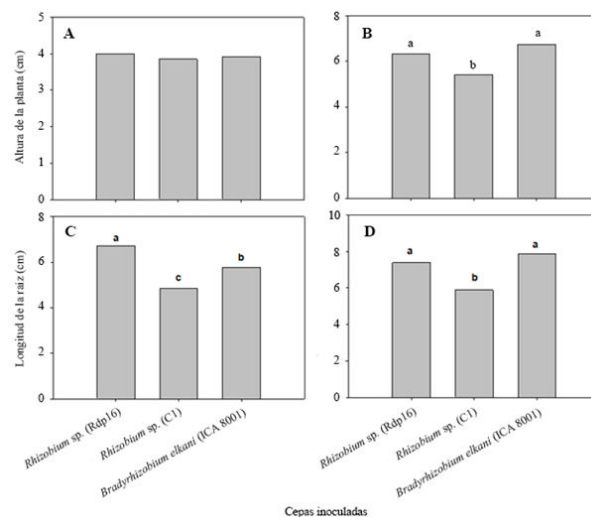
Las figuras 1 y 2 muestran la comparación de las medias para las variables AP y LR para cepas y dosis, respectivamente. Al evaluar el efecto de las cepas de modo individual, se observó que apenas *C. canephora* cv. 'Robusta' evidenció diferencias significativas con destaque para las cepas de *Rhizobium* sp. (Rpd16) y *B. elkani* (ICA 8001), que promovieron los mayores valores de esta variable, sin diferencias estadísticas entre ellas (Figura 1B). La LR en *C. arabica* cv. 'Isla 5-15' (Figura 1C) es estimulada con la inoculación de *Rhizobium* sp. (Rpd16), mientras que para *C. canephora* cv. 'Robusta' las cepas *Rhizobium* sp. (Rpd16) y *B. elkani* (ICA 8001) fueron las mejores (Figura 1D).

Los mejores resultados en el crecimiento de los cultivos dependen de una adecuada colonización de bacterias en la rizósfera (Mahmood *et al.*, 2016). Al parecer, las dos bacterias rizobiales con mejores resultados se establecieron sobre las semillas durante la germinación donde pudieron crecer y colonizar las raíces en toda su extensión. La colonización de la semilla durante la fase de impregnación o inmersión tiene un efecto significativo sobre el crecimiento de la planta (Noumavo *et al.*, 2016).

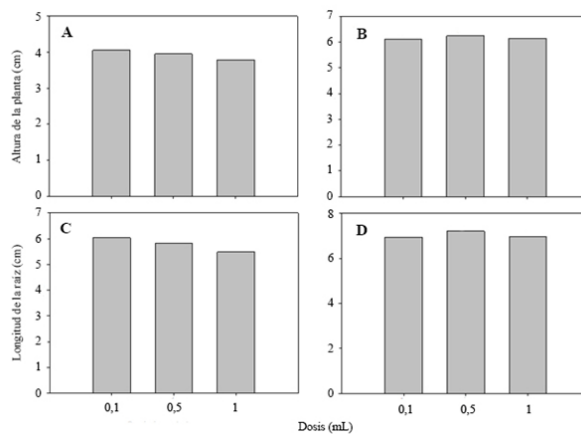
Las medias para las variables AP y LR, al considerar las dosis aplicadas, se muestran en la figura 2. En estas dos variables, independiente de la cultivar, no se observaron respuestas significativas entre las diferentes dosis empleadas en las semillas de *C. arabica* cv. 'Isla 5-15' (Figura 2A y 2C) y *C. canephora* cv. 'Robusta' (Figura 2B y 2D).

Durante el proceso de FBN, la contribución de nitrógeno (N) es esencial para obtener respuestas positivas relacionadas con el desenvolvimiento de las plantas como lo atribuido a la cepa *B. elkani* ICA 8001, según Hernández *et al.* (2015). Estos autores aislaron de nódulos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] y confirmaron que esta cepa es eficiente en fijar el N atmosférico. Las enzimas nitrogenasas presentes en microorganismos, cataliza la reducción del N molecular a amonio, por lo que la capacidad de fijar el N atmosférico, constituye un beneficio adicional que permite promover el crecimiento (Hernández *et al.*, 2015). El N es uno de los nutrientes vitales para el crecimiento y la productividad de las plantas. Se encuentra presente en aminoácidos propios de proteínas, amidas, clorofila, hormonas, nucleótidos, vitaminas, alcaloides y ácidos nucleicos (Ahemad y Kibret, 2014) y, en consecuencia, maximiza la capacidad de las plantas para desenvolverse.

Los resultados de esta investigación mostraron el efecto promotor del crecimiento de algunas cepas de rizobios en dos cultivares de café de importancia económica para Cuba. Es una evidencia más de que estas bacterias,



**Figura 1.** Altura de la planta y longitud de la raíz de semillas de café posterior a la inoculación de rizobios en la. A y C) *C. arabica* cv. 'Isla 5-15'; (V y D) *C. canephora* cv. 'Robusta'. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey  $p < 0,05$ ,  $n = 15$ )



**Figura 2.** Altura de la planta y longitud de la raíz de semillas de café posterior a la inoculación de diferentes dosis rizobios. A y C) *C. arabica* cv. 'Isla 5-15'; (V y D) *C. canephora* cv. 'Robusta'. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey  $p < 0,05$ ,  $n = 15$ )

tradicionalmente estudiadas por su asociación simbiótica con las leguminosas (Priya *et al.*, 2019), tienen la capacidad de beneficiar el crecimiento de otras plantas, a partir de la inoculación en edades tempranas del desarrollo vegetal como es la fase de pre-germinador en café. Los resultados que se obtienen con los inoculantes bacterianos en estudio pueden depender de varios factores, entre ellos, la interrelación planta-microorganismo, la que podrían potenciar el efecto rizosférico (Cuperus, 2016), activando la maquinaria enzimática en la producción de metabolitos secundarios y fitohormonas, que en este caso podrían presentarse en cantidades insuficientes para el crecimiento de esta especie vegetal.

## CONCLUSIONES

La combinación de cepas y dosis de rizobios tienen la capacidad de influenciar el cultivo del café en la fase de pre-germinadores. Para *C. arabica* cv. 'Isla 5-15', la respuesta obtenida en la fase de germinación para los índices IE y IVE fue la misma y estuvo determinada por las combinaciones de 0,1 mL de *B. elkanii* (ICA 8001), 0,5 mL de *Rhizobium* sp. (Rpd16) y 1,0 mL de *Rhizobium* sp. (C1); en la fase de crecimiento apenas la cepa *Rhizobium* sp. (Rpd16) se destacó y no se obtuvo efecto de dosis. Para *C. canephora* cv. 'Robusta', la cepa que mostró la mejor respuesta fue *Rhizobium* sp. (C1), independiente de la dosis empleada para IE y IVE en la fase de germinación, mientras que, en la fase de crecimiento se destacaron las cepas *Rhizobium* sp. (Rpd16) y *B. elkanii* (ICA 8001), sin ningún efecto de las dosis.

## CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

**Sucleidi Nápoles Vinent:** Diseñó el protocolo de investigación, participó en la ejecución de las actividades de investigación, interpretó los resultados del análisis estadístico y elaboró el borrador del manuscrito.

**Edaniel Gallardo Acosta:** Evaluó y recopiló los datos obtenidos en la investigación. Responsable de validar y verificar la replicación general del experimento y otros resultados obtenidos en la investigación.

**Adaris Rivera Zorrilla:** Realizó búsqueda bibliográfica, evaluó y recopiló los datos obtenidos en la investigación.

**María Caridad Nápoles García:** Participó en la planificación de la investigación y revisión crítica del manuscrito.

**Ionel Hernández Forte:** Participó en el diseño del experimento y revisión crítica del manuscrito.

**Belkis Morales Mena:** Responsable de obtener los inoculantes.

**Jorge González Aguilera:** Contribuyó a la creación y estilo de presentación del trabajo publicado.

## BIBLIOGRAFÍA

AHEMAD, M. and KIBRET, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University Science*, 26: 1-20.

BASET MIA, M. A., SHAMSUDDIN, Z. H. and MAHMOOD, M. 2012. Effects of rhizobia and plant growth promoting bacteria inoculation on germination and seedling vigor of lowland rice. *African Journal of Biotechnology*, 11: 3758-3765.

BÉCQUER, C. J., CANCIO, T., NÁPOLES, J. A., *et al.* 2018. Selección de rizobios por su efecto en la germinación y desarrollo incipiente de *Moringa oleífera* Lam. Fase I: condiciones controladas. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 52 (4): 473-484.

BHERING, L. L. 2017. Rbio: a tool for biometric and statistical analysis using the R platform. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 17: 187-190.

BLANCO, E. L., CASTRO, Y., OLIVO, A., *et al.*, 2018. Germinación y crecimiento de plántulas de pimentón y lechuga inoculadas con rizobios e identificación molecular de las cepas. *Bioagro*, 30 (3): 207-218.

CASTANHEIRA, G. G., VEIGA, F. R., SERAFIM, C. L., *et al.* 2013. Minimum period to assess the potential of germination of coffee seeds. *Journal of Seed Science*, 35: 347-352.

CISNEROS, R. C. A., SÁNCHEZ, P. M. y MENJIVAR, F. J. C. 2017. Efecto de bacterias solubilizadoras de fosfatos sobre el desarrollo de plántulas de café. *Agronomía Mesoamericana*, 28 (1): 149-158.

COA, U. M., MÉNDEZ, N. J. R., SILVA, A. R., *et al.* 2014. Evaluación de métodos químicos y mecanismos para promover la germinación de fosforitos en café (*Coffea arabica*) var. Catuai Rojo. *IDESIA*, 32: 43-53.

CUPERUS, F. 2016. An explorative case study on soil micronutrient availability in the province Groningen, The Netherlands. Tesis para optar al título de Master en Ecología de los Sistemas Agrarios. University of Wageningen, The Netherlands, 105 p.

DE FARIAS, E. T., AMARAL, S. E. A., TOOROP, P. E., *et al.* 2015. Expression studies in the embryo and in the micropylar endosperm of germination coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) seeds. *Plant Growth Regulation*, 75: 575-581.

DÍAZ, M. A., LÓPEZ, P. Y., SUÁREZ, P. C., *et al.* 2021. Efecto del Fitomas-E y dos proporciones de materia orgánica sobre el crecimiento de plántulas de café en vivero. *Centro Agrícola*, 48 (1): 14-22.

- ENCALADA, C. M. E., FERNÁNDEZ, P., JUMBO, N., *et al.* 2018. Evaluación del crecimiento de plántulas de *Coffea arabica* L. cv caturra en condiciones de vivero con diferentes sustratos y recipientes. *Bosques Latitud Cero*, 8 (1): 70-84.
- GONZÁLEZ, V. M. E., ROSALES, J. P., CASTILLA, V. Y., *et al.* 2015. Efecto del Bioenraiz<sup>®</sup> como estimulante de la germinación y el desarrollo de plántulas de café (*Coffea arabica* L.). Cuba. *Cultivos Tropicales*, 36 (1): 73-79.
- GUEVARA, F. W., MACHADO-CARCASÉS, G. y BUSTAMANTE-GONZÁLEZ, C. A. 2021. Relación entre la fertilidad de sustratos y el crecimiento de posturas de café (*Coffea arabica* L.) en Contramaestre, Santiago de Cuba. *Ciencia en su PC*, 1: 94-110.
- HASSAN, T. and BANO, A. 2015. The stimulatory effects of L-tryptophan and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on soil health and physiology of wheat. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 15 (1): 190-201.
- HERNÁNDEZ, F. I., NÁPOLES, G. M. C. y MORALES, M. B. 2015. Caracterización de aislados de rizobios provenientes de nódulos de soya (*Glycine max* (L.) Merrill) con potencialidades en la promoción del crecimiento vegetal. *Cultivos Tropicales*, 36 (1): 65-72.
- JIMÉNEZ, G. A., FLORES, F. J. D., GARCÍA, F. P., *et al.* 2018. Probiotic activities of *Rhizobium laguerreae* on growth and quality of spinach. *Scientific Reports*, 8: 295.
- MAHMOOD, A., TURGAY, O. C., FAROOQ, M., *et al.*, 2016. Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: a review. *FEMS Microbiology Ecology*, 92 (8): fiw112.
- NÁPOLES, V. S., MILANES, R. S., GONZÁLEZ, C. L., *et al.* 2021. Rhizobia inoculation favor the growth of *Coffea arabica* L. seedlings grafted in a nursery. *Research, Society and Development*, 10 (6): e10110615722.
- NOUMAVO, P. A., AGBODJATO, N. A., BABA-MOUSSA, F., *et al.* 2016. Plant growth promoting rhizobacteria: Beneficial effects for healthy and sustainable agriculture. *African Journal of Biotechnology*, 15 (27): 1452-1463.
- ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DEL CAFÉ (OIC). 2021. Historical data on the global coffee trade. Disponible en: [http://www.ico.org/new\\_historical.asp](http://www.ico.org/new_historical.asp). Consultado 10/01/2021.
- PARRAY, J. A., JAN, S., KAMILI, A. N., *et al.* 2016. Current perspectives on plant growth-promoting rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35 (3): 877-902.
- PRIYA, M., KUMUTHA, K. and SENTHILKUMAR, M. 2019. Impact of bacterization of *Rhizobium* and *Methylobacterium radiotolerans* on germination and survivability in groundnut seed. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8 (08): 394-405.
- SUBIT, L. D., SIERRA, R. P. M. y CASANOVAS, C. E. 2020. El cultivo del café (*Coffea arabica* L.) y su susceptibilidad a la roya (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome) en la provincia Cienfuegos. *Revista Científica Agroecosistemas*, 8 (3): 109-114.
- VASALLO, R. L. 2019. La crisis de la producción del sistema agroforestal cafetalero en Cuba y su relación con la conservación de la biodiversidad. Tesis para optar al título de Doctor en Ecología. Universidad de Alicante, España, 214 p.
- VINCENT, J. M. 1970. *Manual for the practical study of root-nodule bacteria*. Oxford and Edinburgh: Blackwell Scientific Publications, UK, 164 p.



Artículo de libre acceso bajo los términos de una Licencia Creative Commons AtribuciónNoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional. Se permite, sin restricciones, el uso, distribución, traducción y reproducción del documento, siempre que la obra sea debidamente citada.