



Micobiota benéfica de tres variedades de café (*Coffea arabica*)

Yamel del Carmen Perea-Rojas¹ , Rosa María Arias Mota^{2*} , Rosario Medel Ortiz³ , Gabriela Heredia Abarca² , Guillermo Mendoza Cervantes³ , Dora Trejo Aguilar⁴ 

¹Doctorado en Micología Aplicada. Centro de investigación en Micología Aplicada, Universidad Veracruzana, Xalapa, México. ²Instituto de Ecología, Xalapa, México. ³Centro de investigación en Micología Aplicada, Universidad Veracruzana, Xalapa, México. ⁴Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana, Xalapa, México.

Autor para correspondencia: *rosa.arias@inecol.mx

DOI: <http://doi.org/10.5281/zenodo.16585624>

Editado por: D.C. Jesús Muñoz-Rojas (Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla).

Revisado por:

D.C. Vianey Marín Cevada (Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla).

D.C. Francisco David Moreno Valencia (Estancia Posdoctoral por México, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla).

Resumen

El cultivo de café bajo sombra por su similitud en estructura con el bosque mesófilo de montaña proporciona múltiples servicios ecosistémicos y conserva una gran diversidad de especies, sin embargo, el suelo donde se cultiva tiene poca disponibilidad de nutrientes por lo que los cafecultores recurren a la aplicación excesiva de agroquímicos, estas prácticas además de costosas tienen un fuerte impacto negativo en el suelo. Por lo que surge la necesidad de alternativas amigables con el medioambiente, en este contexto, el uso de bioinoculantes es de gran relevancia. En este trabajo, se evaluaron de manera

cualitativa actividades enzimáticas de cepas de hongos saprobios aislados de la rizósfera de tres variedades de café Anacafé, Costa Rica y Marsellesa. Para el aislamiento de las cepas, se empleó la técnica de lavado de partículas del suelo. La evaluación de las actividades enzimáticas de las cepas se realizó mediante pruebas cualitativas con medios específicos. Se aislaron 62 cepas de la rizósfera de las tres variedades de café, de las cuales el 85% presentó actividad solubilizadora de fósforo, el 24% capacidad para producir celulasas, 37.1% para producir lacasas, 17.8% para producir la enzima manganeso peroxidasa y el 9.7% para producir Lignina peroxidasa. La cepa *Fusarium* A9, presentó respuestas positivas para todas las actividades enzimáticas analizadas. Es importante promover el manejo sustentable del cultivo de café a través del uso de tecnologías limpias que permitan de manera natural brindar los requerimientos nutricionales a los cafetos.

Palabras clave: solubilizadores de fósforo; lacasa; celulasa; manganeso peroxidasa; lignina peroxidasa.

Abstract

Due to its structural similarities to the tropical cloud forest, cultivating shade-grown coffee provides multiple ecosystems services and supports many species. However, the soil where it is grown has limited availability of nutrients, leading coffee growers to resort to the excessive application of agrochemicals. These practices, in addition to being costly have a significant negative impact on the soil. Given the need for environmentally friendly alternatives, the use of bioinoculants is highly relevant in this context. In this work, we qualitatively evaluated the enzymatic activities of strains of saprobic fungi isolated from the rhizosphere of three coffee varieties Anacafé, Costa Rica y Marsellesa. The soil particle washing technique was used to isolate the strains. The evaluation of the enzymatic activities of the strains was carried out through qualitative tests with specific media. As a result, 62 strains were isolated from the rhizosphere of the three coffee varieties: 85% showed phosphorus solubilizing activity, 24% had the capacity could produce the cellulase enzyme, 37.1% produced laccase, 17.8% produce the manganese peroxidase enzyme and 9.7% produce lignin peroxidase. The *Fusarium* A9 strain presented positive responses for all the enzymatic activities analysed. It is important to promote the sustainable

management of coffee crops through clean technologies that allow them to meet the nutritional requirements of coffee plants nutritionally.

Keywords: phosphorus solubilizers; laccase; cellulase; manganese peroxidase; lignin peroxidase.

Introducción

México es el 13º mayor productor de café del mundo [1]. Este cultivo representa la principal fuente de ingresos en 480 municipios, muchos de estos en regiones altamente marginadas del país [2]. En México, el café se cultiva principalmente en la modalidad bajo sombra con hasta 50 especies de plantas por hectárea como árboles frutales, maderables y de sombra, plantas medicinales y numerosas variedades de café [3]. Diversos estudios señalan que esta forma de cultivo otorga una gran variedad de servicios ambientales, tales como: captura de carbono, protección del suelo, recarga de los mantos acuíferos, valor paisajístico, regulación del clima regional y conservación de flora y fauna [4]. En el estado de Veracruz se cultivan principalmente dos especies de café: *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* P. Dentro de *C. arabica*, existen diversas variedades tradicionales con diversos orígenes como Typica (Etiopía), Bourbon (Francia), Caturra (Brasil), Garnica (México), Mundo Novo (Brasil), Catuai (Brasil) y Pacamara (Nicaragua). En respuesta a la severa afectación causada por la roya del café (*Hemileia vastatrix*) en el año 2013, se desarrollaron recientemente nuevas variedades tolerantes a este patógeno, entre las cuales destacan Oro Azteca (México), Costa Rica 95 (Costa Rica), Anacafé (Guatemala) y Marsellesa (Nicaragua) [5]. Estas variedades representan una estrategia clave para asegurar la productividad y sostenibilidad del cultivo en la región.

A pesar de su importancia, la actividad cafetalera ha estado implicada en recurrentes crisis económicas debido a la caída de los precios en el mercado internacional [6]. Por lo anterior, se han buscado diversas opciones para resolver el problema y poder seguir beneficiándose del café como motor de crecimiento comunitario y regional. Dentro de las opciones disponibles, la más exitosa es la producción y venta de café orgánico certificado y de comercio justo [7].

La microbiota edáfica juega un papel fundamental sobre la disponibilidad de los nutrientes para mantener la fertilidad del suelo, además permiten optimizar el

crecimiento, el desarrollo y la sanidad de las plantas [8-10]. Cada variedad de café alberga en su rizósfera una específica, amplia y diversidad de microorganismos benéficos [10-12]. Bajo este contexto, los hongos saprobios presentes en el suelo ofrecen una variedad de beneficios tales como la degradación de la materia orgánica; el reciclaje de nutrientes y la disponibilidad de nutrientes de baja solubilidad para las plantas [13-15] (Figura 1).

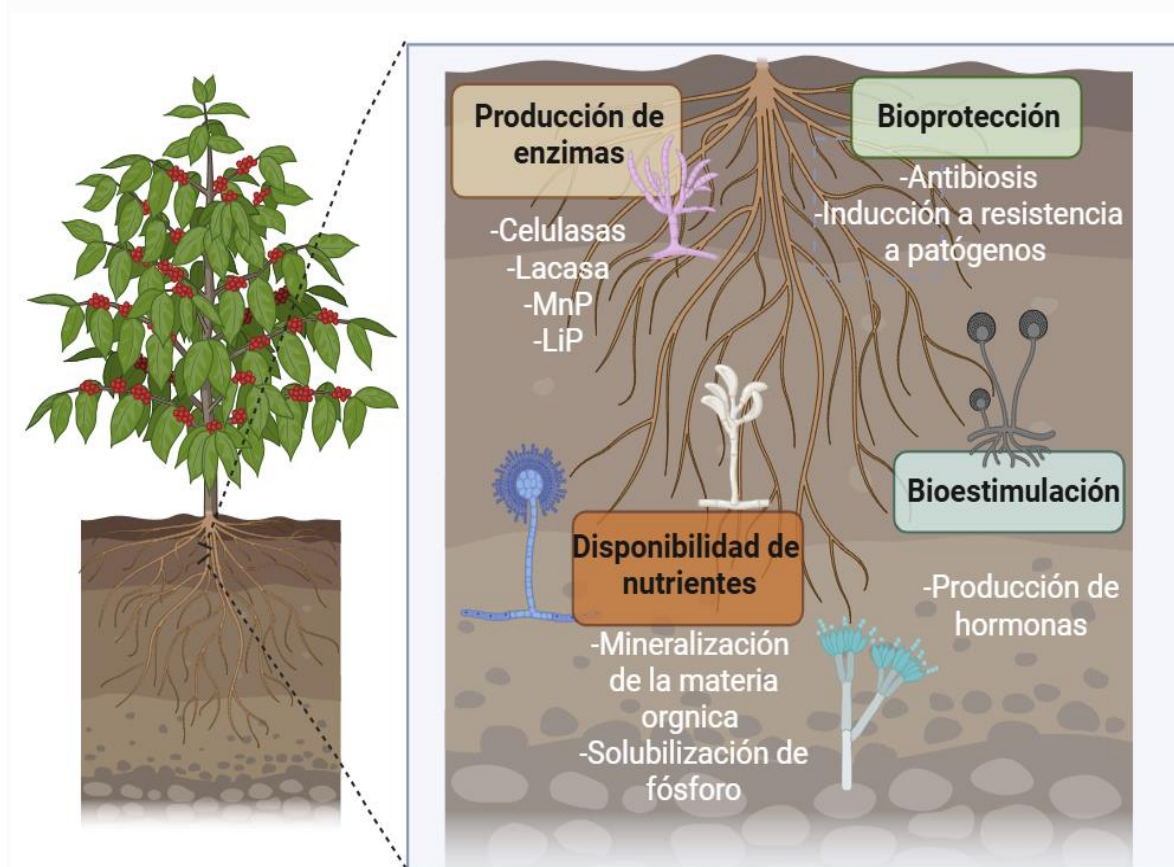


Figura 1. Los hongos del suelo proporcionan diversos servicios ecosistémicos como la producción de enzimas (células, lacasas, MnP: manganeso peroxidasa, LiP: lignina peroxidasa), intervienen en la disponibilidad de nutrientes a través de procesos de mineralización y solubilización, participan en la bioestimulación mediante la producción de hormonas y funcionan como bioprotectores (antibiosis y resistencia a patógenos).

Dentro de los hongos saprobios, un grupo de microorganismos sumamente importantes son los hongos celulolíticos y ligninolíticos; los cuales tienen la capacidad de mineralizar la lignina en conjunto con los otros componentes de la madera como la celulosa y la hemicelulosa [16]. En la degradación de estos

compuestos participan enzimas fúngicas extracelulares como la celulasa, lacasa, manganeso peroxidasa (MnP) y lignina peroxidasa (LiP). En años recientes se ha estudiado ampliamente estas enzimas pues poseen una extensa aplicación biotecnológica en la industria papelera, textil, alimentaria, farmacéutica. Además, han sido empleadas en la degradación de compuestos ligninocelulolíticos y en la biorremediación de suelos contaminados [17].

Otro grupo de interés son los hongos fosfato solubilizadores, los cuales juegan un rol fundamental en el reciclaje de fósforo. Estos hongos mediante la producción de enzimas fosfatasas y ácidos orgánicos, intervienen en los procesos de mineralización y solubilización del fósforo para que las plantas puedan aprovechar las grandes reservas de fósforo insoluble que se encuentra fijado a los minerales del suelo, contribuyendo de esta manera a la reducción en el uso de fertilizantes químicos.

En este sentido, es necesario realizar exploraciones para conocer la diversidad de especies de microorganismos y los beneficios que estos pueden brindar y así promover un manejo sustentable del café. El presente estudio se planteó con el objetivo de estudiar las actividades enzimáticas de cepas de hongos saprobios con potencial biotecnológico para desarrollar en un futuro estrategias sustentables en el manejo del cultivo de café.

Material y métodos

Se emplearon plantas de café (*Coffea arabica*) de tres variedades: Anacafé, Costa Rica y Marsellesa. Las plantas, con una edad de cuatro meses las proporcionaron productores locales de café. Las plantas de café fueron crecidas en suelo de cafetal en condiciones de invernadero. Para el aislamiento de los hongos del suelo, se colectaron tres muestras de la rizosfera de cada variedad de café. El aislamiento de los hongos se llevó a cabo mediante la técnica de lavado de partículas del suelo [18]. Este procedimiento consiste en tomar 1 g de suelo y lavarlo con agua purificada utilizando una serie de microtamices de 1 mm, 250 μ m y 105 μ m, sostenidos en una malla de 2 mm y conectados a una bomba de vacío. El lavado se efectuó hasta completar 2 L de agua. Posteriormente, se colocaron 300 μ L de muestra en el medio de rosa de bengala (DRBC) con clorafenicol para reducir el crecimiento de bacterias. Una vez emergidas las colonias, se purificaron en medio de agar papa dextrosa (PDA) y

se colocaron en tubos con medio de PDA para su preservación. Las cepas se reactivaron en medio de cultivo PDA y se mantuvieron en durante 10 días a 25 °C en la oscuridad.

Enseguida, se realizaron preparaciones permanentes en alcohol polivinil y semipermanentes en ácido láctico al 10% de cada una de las cepas y se observaron bajo el microscopio compuesto. Las cepas se identificaron a nivel de género con base en las características morfológicas de sus colonias y las estructuras de reproducción como el conidióforo, células conidiógenas y conidios. La ubicación taxonómica se llevó a cabo mediante la consulta de claves taxonómicas y literatura especializada como Domsch *et al.* [19], Ellis [20], Ellis [21] y Matsushima [22].

Posteriormente, para cada una de las cepas se evaluó de manera cualitativa la actividad solubilizadora de fósforo; así como las actividades enzimáticas de celulasas, lacasa, MnP y LiP. Las técnicas específicas para cada actividad se describen a continuación.

Detección cualitativa de la actividad solubilizadora de fósforo

Para esta evaluación se empleó un medio de cultivo revelador de fosfatos descrito por Sundara y Sinha [23] con 0.5 g L⁻¹ de fosfato tricálcico Ca₃(PO₄)₂ como forma insoluble de fósforo. Las cepas fueron inoculadas de forma puntal en cajas Petri con el medio de Sundara y Sinha por triplicado. Las cajas Petri se incubaron durante tres días (Thermo Scientific®150) a 25 °C. La respuesta positiva a la solubilización de fósforo se detectó mediante la presencia de un halo transparente alrededor de la colonia.

Detección de celulasas

Para la detección de la actividad de la enzima celulasa, se utilizó medio de cultivo Czapeck con carboximetil celulosa, este contenía extracto de levadura 0.2 g/L, NaNO₃ 2 g/L, KCl 0.5 g/L, MgSO₄ 0.5 g/L, FeSO₄ 0.01 g/L, K₂HPO₄ 1 g/L, carboximetil-celulosa 20 g/L y agar 20 g/L. La inoculación de las cepas se realizó de forma puntal por triplicado. Las cajas Petri inoculadas se incubaron durante cinco días (Thermo Scientific®150) a 25 °C. Una vez finalizado el periodo de

incubación, se realizó una tinción a las colonias con una solución de rojo Congo al 2% durante 15 minutos, posteriormente se eliminó el colorante y las colonias se enjuagaron con una solución de NaCl 1M. La detección de respuestas positivas a la producción de celulasa fue mediante la formación de un halo de color amarillo alrededor de la colonia.

Detección de las actividades enzimáticas (lacasa, MnP y LiP)

Para la evaluación cualitativa de las actividades enzimáticas lacasa, MnP y LiP, se empleó el medio de cultivo sólido Rubilar [24], compuesto por glucosa (10 g/L), KH_2PO_4 (2 g/L), NH_4 (0.2 g/L), $\text{CaCl}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (0.1 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5 g/L), agar (25 g/L) y un colorante específico (ABTS, Azure B o rojo fenol) a una concentración de 0.1 g/L. Se utilizó ABTS para la detección de la enzima lacasa, Azure B para LiP y rojo fenol para detectar MnP. Las cepas fueron inoculadas de forma puntual por triplicado en el medio de cultivo. Las cajas Petri se incubaron a 25 °C durante 10 días (Thermo Scientific®150) a 25 °C.

Una respuesta positiva a la producción de lacasa se evidenció por un cambio de coloración a verde esmeralda en el medio de cultivo, en la actividad de LiP se indicó por un cambio de color a azul violeta, mientras que la presencia de enzimas MnP se identificó mediante un cambio de color amarillo a naranja.

La figura 2 muestra un esquema de la metodología empleada, incluyendo las respuestas esperadas positivas para cada evaluación enzimática.

Resultados y discusión

En la presente investigación se aislaron un total de 62 cepas fúngicas saprobias a partir de muestras rizosféricas de tres variedades de café *Coffea arabica*: Costa Rica (19 cepas), Marsellesa (21 cepas) y Anacafé (22 cepas). Los géneros más frecuentemente identificados fueron *Cladosporium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Epicoccum*, *Absidia* y *Aspergillus* (Tabla 1, Figura 3), todos ellos con una distribución cosmopolita y previamente reportados en diversos agroecosistemas cafetaleros [25; 26]. Si bien estudios anteriores se han enfocado exclusivamente en el aislamiento de hongos del suelo en cafetales de la variedad Costa Rica [25; 27], esta investigación constituye el primer reporte

que documenta y caracteriza la microbiota edáfica saprobia asociada a las variedades Anacafé y Marsellesa.

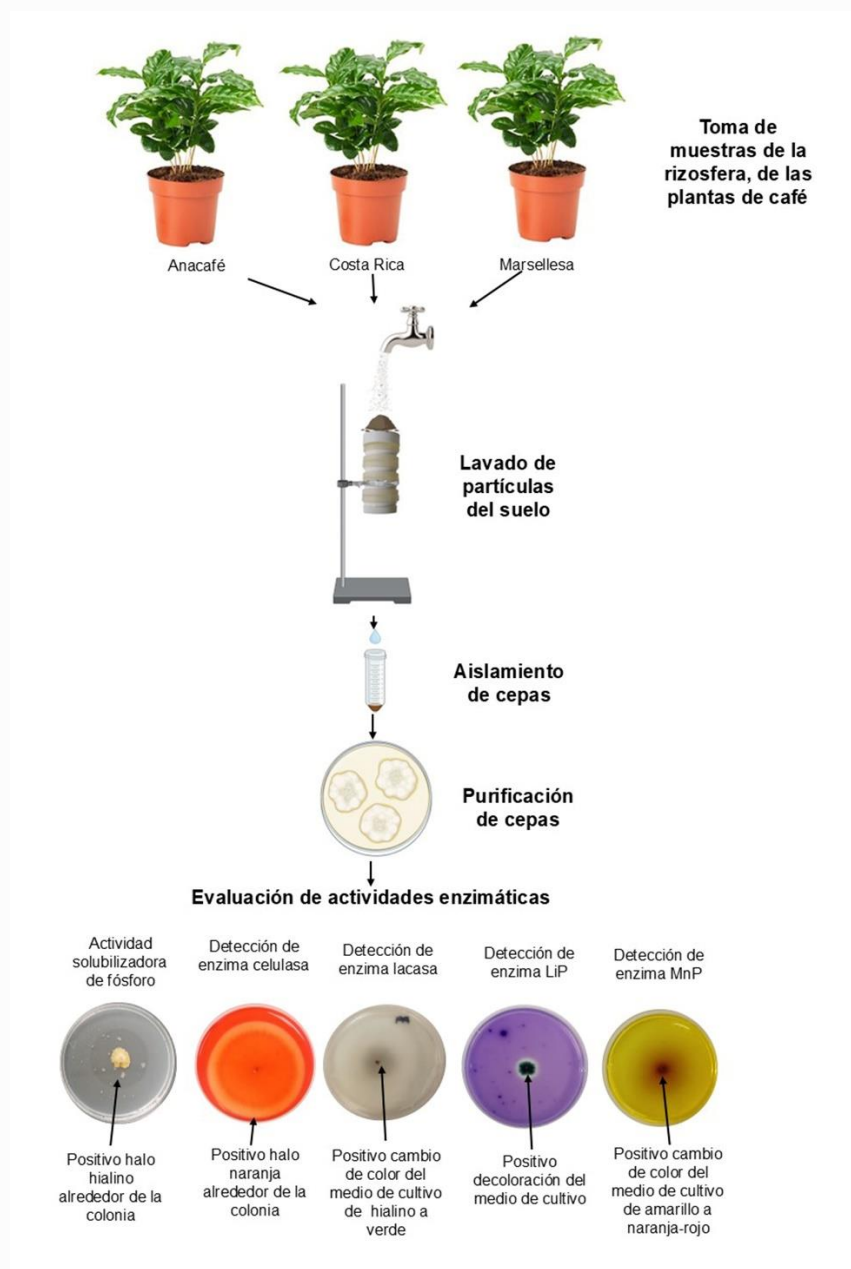


Figura 2. Esquema metodológico. A partir de muestras de la rizosfera de tres variedades de café (Anacafé, Costa Rica y Marsellesa) se aplicó la técnica de lavado de partículas del suelo para el aislamiento de los hongos del suelo. Posteriormente se realizó purificación de cepas en medio de cultivo y la evaluación cualitativa de las actividades enzimáticas (MnP: manganeso Peroxidasa, LiP: lignina Peroxidasa) de cada una de las cepas aisladas.

El cultivo de café puede albergar una comunidad microbiana diversa en la rizósfera, donde los hongos benéficos desempeñan funciones clave como la mineralización de la materia orgánica, la transformación de compuestos complejos en formas disponibles para las plantas, y la mejora de la fertilidad del suelo, favoreciendo así el crecimiento y desarrollo vegetal [10, 12]. No obstante, en los sistemas de producción convencionales, los déficits nutrimentales suelen ser abordados mediante la aplicación intensiva de fertilizantes inorgánicos, herbicidas y plaguicidas, lo cual ha generado impactos negativos en la biodiversidad edáfica y en el medio ambiente [28].

En este contexto, el aprovechamiento de microorganismos benéficos autóctonos representa una estrategia prometedora para el desarrollo de bioinoculantes adaptados a las condiciones locales, que contribuyan a la transición hacia un manejo agroecológico y sustentable del café.

Tabla 1. Listado de cepas de hongos aisladas de la rizosfera de tres variedades de café y sus respuestas a la actividad solubilizadora de fósforo y actividades enzimáticas (celulasas, lacasa, MnP: manganeso peroxidasa y LiP: lignina peroxidasa).

Variedad de Café	Cepas aisladas	Solubilizador de fósforo	Celulasa	Lacasa	MnP	LiP
Anacafé	Micelio estéril A3	+	-	-	-	-
Anacafé	<i>Epicoccum</i> sp. A6	+	+	-	+	-
Anacafé	<i>Fusarium</i> sp. A7	+	-	-	-	-
Anacafé	* <i>Fusarium</i> sp. A9	+	+	+	+	+
Anacafé	<i>Cladosporium</i> sp. A13	+	-	-	+	-
Anacafé	<i>Fusarium</i> sp. A14	+	+	-	+	-
Anacafé	<i>Fusarium</i> sp. A15	+	-	-	+	+
Anacafé	<i>Fusarium</i> sp. A16	+	-	+	-	-
Anacafé	<i>Cladosporium</i> sp. A18	-	+	+	+	+
Anacafé	Micelio estéril A20	+	+	+	-	-
Anacafé	<i>Fusarium</i> sp. A21	+	+	-	-	-
Anacafé	Micelio estéril A22	-	-	-	-	-
Anacafé	<i>Fusarium</i> sp. A23	-	-	+	-	-
Anacafé	Micelio estéril A25	+	+	-	-	-
Anacafé	<i>Penicillium</i> sp. A27	-	-	+	-	-
Anacafé	<i>Fusarium</i> sp. A28	+	-	+	+	+
Anacafé	<i>Penicillium</i> sp. A29	+	-	-	-	-

Variedad de Café	Cepas aisladas	Solubilizador de fósforo	Celulasa	Lacasa	MnP	LiP
Anacafé	<i>Penicillium</i> sp. A30	+	-	-	-	-
Anacafé	<i>Fusarium</i> sp. A31	-	-	+	+	-
Anacafé	<i>Trichoderma</i> sp. A32	+	+	+	-	-
Anacafé	<i>Trichoderma</i> sp. A33	+	-	+	-	-
Anacafé	<i>Fusarium</i> sp. A34	+	-	+	-	-
Costa Rica	<i>Fusarium</i> sp. C3	+	+	-	-	-
Costa Rica	<i>Fusarium</i> sp. C5	-	-	-	-	-
Costa Rica	<i>Fusarium</i> sp. C8	+	+	-	-	-
Costa Rica	Micelio estéril C20	+	+	-	-	-
Costa Rica	<i>Fusarium</i> sp. C23	+	-	-	-	+
Costa Rica	<i>Fusarium</i> sp. C24	+	-	-	-	-
Costa Rica	<i>Fusarium</i> sp. C25	+	-	-	-	-
Costa Rica	<i>Trichoderma</i> sp. C26	+	-	-	-	-
Costa Rica	Micelio estéril C27	+	-	-	-	-
Costa Rica	Micelio estéril C28	+	-	-	-	-
Costa Rica	<i>Trichoderma</i> sp. C30	+	-	+	-	-
Costa Rica	<i>Trichoderma</i> sp. C32	+	-	+	+	-
Costa Rica	<i>Trichoderma</i> sp. C34	+	-	+	+	-
Costa Rica	<i>Mucor</i> sp. C36	+	+	-	-	-
Costa Rica	Micelio estéril C38	+	-	-	+	-
Costa Rica	<i>Trichoderma</i> sp. C39	-	-	+	-	-
Costa Rica	<i>Fusarium</i> sp. C40	+	-	-	-	-
Costa Rica	<i>Trichoderma</i> sp. C42	+	-	+	-	-
Costa Rica	<i>Fusarium</i> sp. C43	-	-	+	-	-
Marsellesa	<i>Penicillium</i> sp. M1	+	+	-	-	-
Marsellesa	<i>Epicoccum</i> sp. M6	+	+	-	+	-
Marsellesa	Micelio estéril M20	+	-	+	-	-
Marsellesa	<i>Trichoderma</i> sp. M23	+	+	-	-	-
Marsellesa	<i>Trichoderma</i> sp. M25	+	-	+	-	-
Marsellesa	<i>Trichoderma</i> sp. M28	+	-	+	-	-
Marsellesa	<i>Trichoderma</i> sp. M29	+	-	-	-	-
Marsellesa	<i>Cladosporium</i> sp. M3	+	-	-	-	-
Marsellesa	<i>Penicillium</i> sp. M30	+	-	-	-	-
Marsellesa	Micelio estéril M32	+	-	-	-	-
Marsellesa	<i>Fusarium</i> sp. M35	+	-	-	-	-
Marsellesa	<i>Penicillium</i> sp. M37	+	-	-	-	-
Marsellesa	<i>Penicillium</i> sp. M38	+	-	-	-	-
Marsellesa	<i>Penicillium</i> sp. M40	+	-	+	-	+
Marsellesa	<i>Fusarium</i> sp. M45	+	-	-	-	-

Variedad de Café	Cepas aisladas	Solubilizador de fósforo	Celulasa	Lacasa	MnP	LiP
Marsellesa	Micelio estéril M9	+	-	-	-	-
Marsellesa	<i>Aspergillus</i> sp. M50	+	+	+	-	-
Marsellesa	Micelio estéril M51	-	-	-	-	-
Marsellesa	<i>Aspergillus</i> sp. M52	+	-	+	-	-
Marsellesa	Micelio estéril M53	+	-	-	-	-
Marsellesa	Micelio estéril M54	+	+	-	-	-

*Respuesta positiva en todas las pruebas enzimáticas

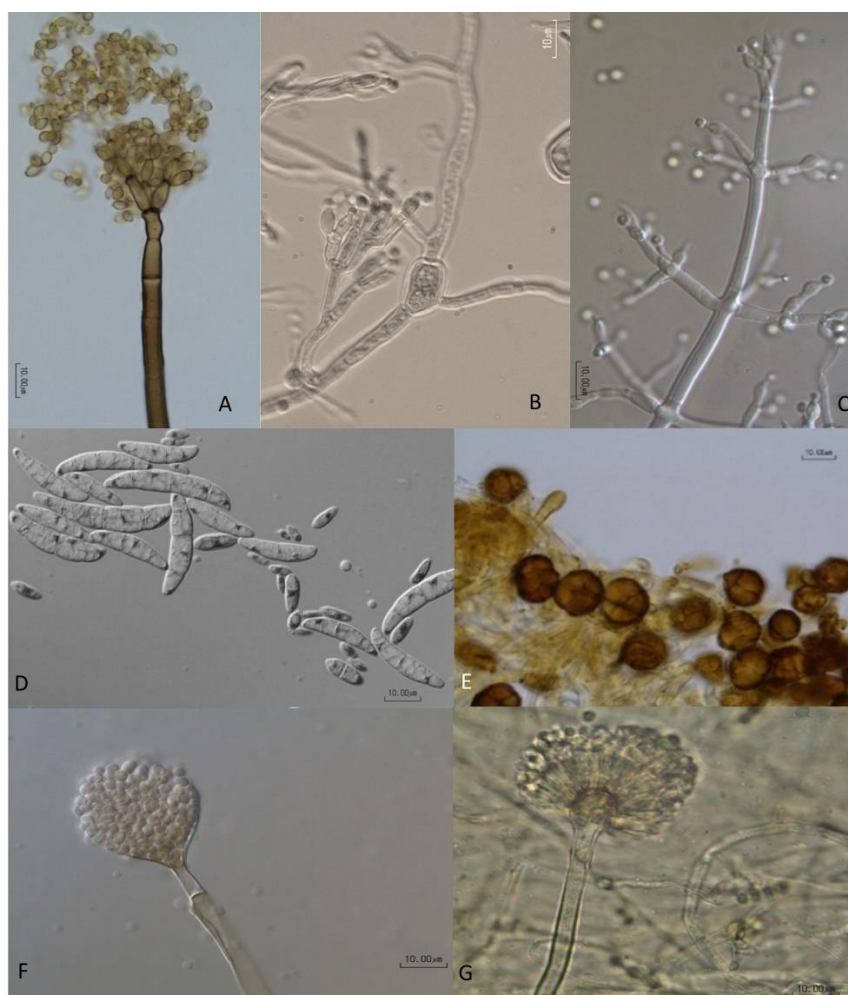


Figura 3. Microscopía de algunas de las cepas de los géneros más comunes aislados de la rizosfera de tres variedades de café (Anacafé, Costa Rica y Marsellesa). A) *Cladosporium* (conidióforo y conidios), B) *Penicillium* (conidióforo y conidios), C) *Trichoderma* (conidióforo y conidios), D) *Fusarium* (Macro y microconidios), E) *Epicoccum* (conidios) F) *Absidia* (esporangióforo, esporangio y esporangiosporas) y G) *Aspergillus* (conidióforo y conidios). Escala de las barras: 10 µm.

Actividad solubilizadora de fósforo y actividades enzimáticas

Se observó una variación en las respuestas de solubilización de fósforo y actividades enzimáticas entre las diferentes variedades de plantas de café. Esta respuesta diferencial, podría estar determinada por las condiciones particulares del ambiente rizosférico de cada variedad. Es probable que las variaciones en la composición de los exudados radiculares influyan en el establecimiento y selección de las interacciones microbianas [29].

Las plantas de café de la variedad Marsellesa presentaron un mayor porcentaje de cepas fosfato solubilizadoras (95.23%) seguida de la variedad Costa Rica (84.82%) y Anacafe (77.27%). Respecto a las actividades enzimáticas; las plantas de la variedad Anacafe mostraron un mayor porcentaje de cepas con actividad de celulasa (36.36%), lacasa (50%), MnP (31.8%) y para LiP (18.18%). Es importante señalar que la mayor actividad enzimática registrada fue la lacasa, seguida de celulasa, MnP y LiP (Figura 4).

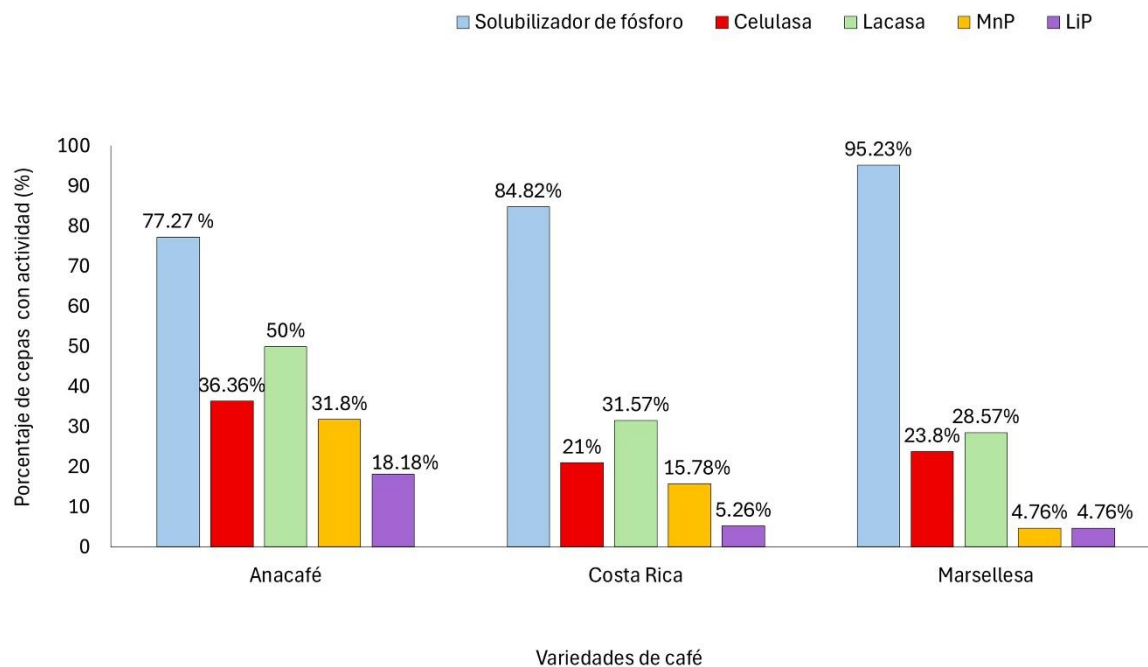


Figura 4. Porcentaje de cepas con actividad solubilizadora de fósforo y actividades enzimáticas (celulasa, lacasa, manganeso peroxidasa (MnP), lignina peroxidasa (LiP) para cada variedad de café.

Los resultados de este estudio evidencian la alta funcionalidad de la micobiota edáfica asociada a la rizósfera de *Coffea arabica*. De las 62 cepas fúngicas aisladas, el 85 % mostró actividad fosfato solubilizadora, mientras que el 62 % presentó al menos una actividad enzimática. Estos hallazgos resaltan la capacidad metabólica de los hongos del suelo para intervenir en procesos clave como la movilización de nutrientes, la degradación de materia orgánica compleja y el reciclaje de compuestos lignocelulósicos.

Las enzimas evaluadas celulasa, lacasa, MnP y LiP cumplen un papel esencial en la descomposición de residuos vegetales y en la liberación de nutrientes esenciales para las plantas. En este contexto, 22 cepas mostraron una sola actividad enzimática, 24 cepas expresaron dos, 10 cepas presentaron tres y dos cepas fueron positivas a las cuatro actividades evaluadas. De forma destacada, la cepa *Fusarium* sp. A9 mostró actividad positiva en todas las pruebas, posicionándose como un organismo de alto valor funcional y biotecnológico.

Debido a que no todas las cepas poseen la capacidad de producir el mismo conjunto de enzimas ni degradar los mismos compuestos, es fundamental continuar con la bioprospección de cepas con múltiples actividades enzimáticas. Estas cepas presentan mayores posibilidades de descomponer estructuras complejas del suelo, favoreciendo tanto la nutrición vegetal como la restauración de ambientes degradados. En particular, las cepas *Fusarium* sp. A9, *Cladosporium* sp. A18 y *Fusarium* sp. A28 todas ellas aisladas de la variedad Anacafé fueron positivas a la mayoría de las actividades evaluadas, lo que las convierte en candidatas prometedoras para aplicaciones biotecnológicas.

La Figura 5 muestra ejemplos representativos de las respuestas observadas: en el lado izquierdo (A, C, E, G, I) se presentan cepas con resultados negativos (sin formación de halos ni cambio de color), mientras que en el lado derecho (B, D, F, H, J) se observan respuestas positivas, caracterizadas por halos claros y cambios de coloración en el medio, indicadores de actividad enzimática o solubilizadora.

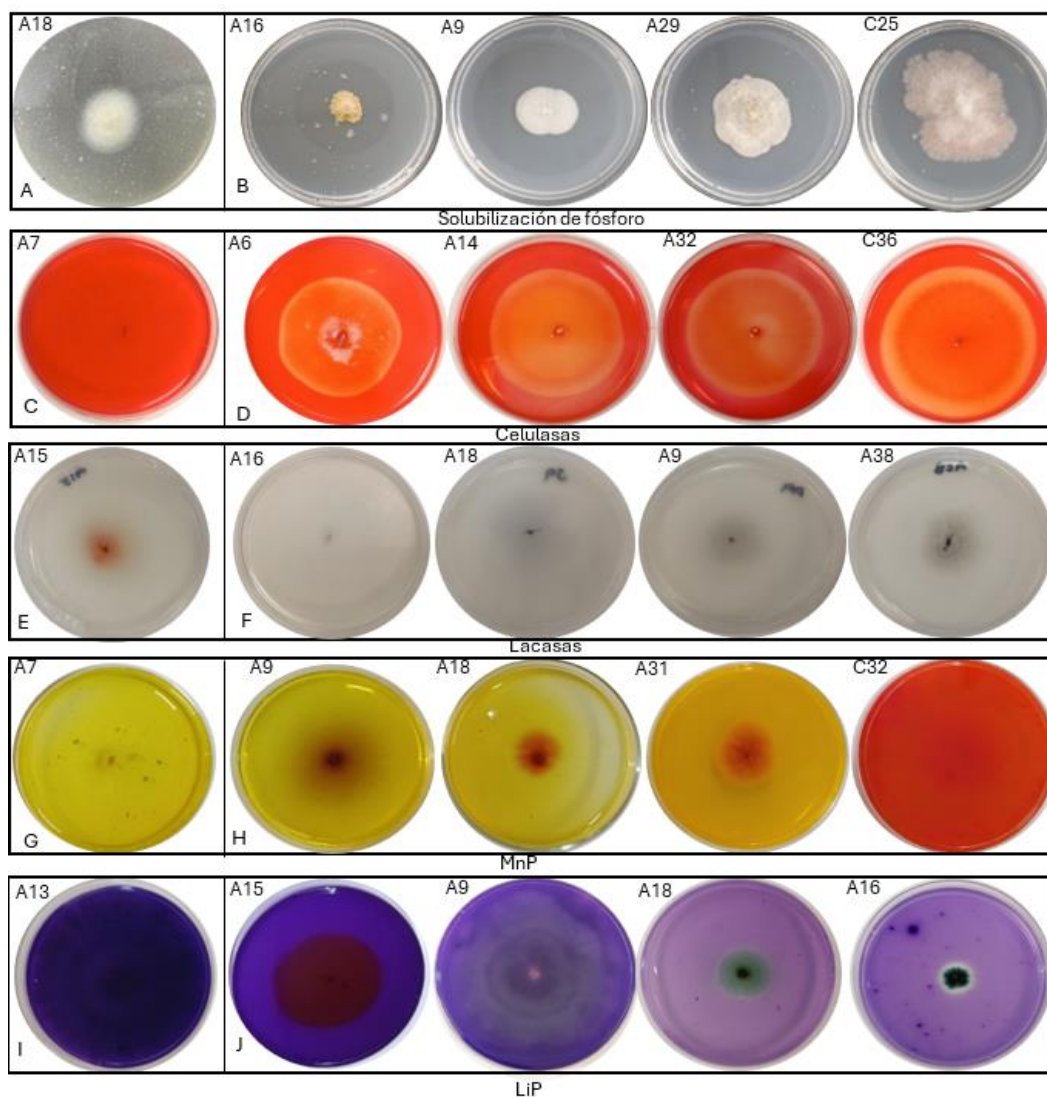


Figura 5. Respuestas de algunas cepas a la solubilización de fósforo y actividades enzimáticas (celulasa, lacasas, manganeso peroxidasa MnP y Lignina peroxidasa (LiP) En el lado izquierdo (A, C, E, G, I) se observan las respuestas negativas, mientras que en el lado derecho (B, D, F, H, J) las respuestas positivas. Las claves de los nombres de cepas se reportan en el listado de la Tabla 1.

Las cepas con actividad fosfato solubilizadora reportadas en este trabajo constituyen una base sólida para futuras investigaciones enfocadas en evaluar su eficacia tanto *in vitro* como *in vivo* con plantas de café de distintas variedades. Estudios previos han demostrado que la aplicación de hongos solubilizadores de fósforo puede mejorar significativamente la disponibilidad de este nutriente y el crecimiento vegetal en condiciones controladas e incluso en campo. Por

ejemplo, Perea *et al.* [30] reportaron aumentos en el contenido de fósforo y biomasa vegetal en plantas de café cultivadas en invernadero. Asimismo, Arias *et al.* [27] documentaron que la aplicación de *Penicillium brevicompactum* en cafetales de la variedad Costa Rica incrementó la productividad en condiciones de campo.

Por otro lado, las enzimas ligninolíticas han sido ampliamente estudiadas en hongos macroscópicos, particularmente en basidiomicetos productores de podredumbre blanca [31; 32]. Estas especies son reconocidas por producir peroxidasas capaces de degradar lignina. No obstante, el conocimiento sobre la producción de enzimas ligninolíticas en hongos filamentosos sigue siendo limitado. Algunas investigaciones han demostrado que géneros como *Aspergillus* y *Penicillium* poseen sistemas enzimáticos extracelulares versátiles, capaces de degradar polímeros irregulares como la lignina mediante lacasas, MnP y LiP [33].

En el presente estudio, destacaron los géneros *Aspergillus*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Trichoderma* por su capacidad para producir peroxidasas. Estos hongos, presentes en la rizósfera cafetalera, contribuyen directamente al reciclaje de nutrientes, al participar en procesos de descomposición orgánica. Además, se ha propuesto que *Fusarium* y *Penicillium* podrían desempeñar un rol activo en los ciclos del carbono, nitrógeno, fósforo y azufre [34].

Numerosos estudios respaldan la contribución de los hongos del suelo a la degradación de residuos de cosecha, mejora de la estructura edáfica y dinámica de nutrientes [35–38]. Asimismo, las enzimas ligninolíticas han mostrado eficacia en la degradación de plaguicidas de distinta naturaleza química, como triazinas, organoclorados y organofosforados [39–42]. Por tanto, las cepas lignino-celulolíticas identificadas en este trabajo podrían emplearse no solo para acelerar procesos de compostaje y producción de enmiendas orgánicas, sino también en programas de biorremediación orientados a la recuperación de suelos contaminados.

En este sentido, la versatilidad funcional observada en cepas como *Fusarium* sp. A9, *Cladosporium* sp. A18 y *Fusarium* sp. A28 —en términos tanto de solubilización de fósforo como de producción de múltiples enzimas— ofrece un

gran potencial para desarrollar bioinoculantes destinados a mejorar la nutrición vegetal y mitigar el uso de fertilizantes químicos de baja eficiencia y alto impacto ambiental. Además, estas cepas representan una alternativa promisorio en estrategias de biorremediación, especialmente para suelos afectados por hidrocarburos o agroquímicos. Su capacidad para producir enzimas con alta especificidad y poder oxidativo sugiere su participación en la transformación o mineralización de compuestos tóxicos y recalcitrantes, contribuyendo a la restauración de ecosistemas alterados.

En consecuencia, resulta imperativo continuar con la exploración sistemática de la micobiota edáfica nativa, con el fin de identificar cepas funcionalmente versátiles que puedan ser integradas en la formulación de bioinsumos y en el diseño de estrategias sostenibles de manejo del cultivo de café.

Conclusión

Los resultados de esta investigación evidencian el alto potencial biotecnológico de los hongos aislados de la rizósfera de tres variedades de *Coffea arabica* (Anacafé, Costa Rica y Marsellesa), ya que un porcentaje significativo de las cepas presentó actividad fosfato solubilizadora, mientras que otras mostraron capacidad para producir enzimas implicadas en la degradación de compuestos lignocelulósicos. En particular, las cepas *Fusarium* sp. A9, *Cladosporium* sp. A18 y *Fusarium* sp. A28 destacaron por exhibir múltiples actividades enzimáticas, lo que las convierte en candidatas prometedoras para el desarrollo de bioinoculantes multifuncionales.

Estas cepas podrían ser empleadas en formulaciones destinadas a mejorar la disponibilidad de fósforo en sistemas cafetaleros, contribuyendo a reducir la dependencia de fertilizantes químicos y fomentando prácticas agrícolas más sostenibles. Asimismo, su capacidad para producir enzimas ligninolíticas amplía sus posibles aplicaciones en procesos de biorremediación, tales como la degradación de residuos agrícolas, la aceleración del compostaje y la recuperación de suelos contaminados por agroquímicos.

El aprovechamiento de cepas fúngicas nativas representa una estrategia clave para avanzar hacia un manejo agroecológico y ambientalmente responsable en la caficultura. No obstante, para consolidar su aplicación a escala productiva, se

requieren estudios adicionales que incluyan evaluaciones cuantitativas y funcionales bajo condiciones de campo, así como el análisis de su persistencia, colonización del suelo y efectos a largo plazo sobre la salud del cultivo y la productividad.

Paralelamente, resulta fundamental realizar una identificación taxonómica precisa de las cepas con potencial biotecnológico. En este estudio, dos de las cepas destacadas pertenecen al género *Fusarium*, el cual incluye tanto especies benéficas como fitopatógenas. Por ello, se recomienda complementar los análisis morfológicos con herramientas moleculares para determinar con exactitud la identidad de las cepas y asegurar su uso seguro en aplicaciones agrícolas.

Estas líneas futuras de investigación son esenciales para validar experimentalmente el potencial funcional de los hongos edáficos benéficos y para facilitar su integración en estrategias de manejo sustentable, así como su transferencia tecnológica a productores y sistemas agrícolas locales.

Agradecimientos

La primera autora agradece al CONAHCYT por la beca otorgada (800598) para la realización de sus estudios de doctorado en el Centro de Investigación en Micología Aplicada de la Universidad Veracruzana.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no hay conflicto de interés con el contenido del trabajo presentado.

Referencias

[1]. SIAP [Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera]. Panorama Agroalimentario. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/panorama-agroalimentario-258035>

- [2]. CEDRSSA [Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria]. Comercio internacional del café, el caso de México. Investigación interna. Palacio Legislativo de San Lázaro. Cámara de Diputados. 2019. Disponible en: <http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/94Café%20Producción%20y%20Consumo.pdf>
- [3]. Moguel P, Toledo M. Biodiversity conservation in traditional coffee systems of Mexico. *Conserv Biol.*1999; 13(1): 11-21. Disponible en: <https://conbio.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1523-1739.1999.97153.x>
- [4]. Manson R, Hernández V, Gallina S, Mehlreter K. Agroecosistemas Cafetaleros de Veracruz. Biodiversidad, Manejo y Conservación. México: Instituto de Ecología / Instituto Nacional de Ecología; 2008. 348 p. Disponible en: <https://prodeino.org/wp-content/uploads/2024/03/27.-Agrosistemas-cafetaleros-de-Veracruz.pdf>
- [5]. Escamilla PE. Las variedades de café en México ante el desafío de la roya. Breves de Políticas Públicas. Boletín Informativo. Programa mexicano del carbono. Proyecto Una Red para Salvar la Sombra-de la Sierra Madre de Chiapas. 2016. [Citado el 1 de diciembre 2024]. Disponible en: http://pmcarbono.org/pmc/descargas/proyectos/redd/Breves_de_Políticas_Publicas_No.4-Variedades_de_cafe_en_Mexico.pdf.
- [6]. Escamilla E, Ruiz O, Díaz G, Landeros C, Platas DE, Zamarripa A, Gonzalez. El agrosistema café orgánico en México. Manejo integrado de plagas y Agroecología (Costa Rica). 2005; 76:5-16. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/294091249_Manejo_Integrado_de_Plagas_y_Agroecologia
- [7]. Moguel P, Toledo VM. Conservar produciendo: biodiversidad, café orgánico y jardines productivos. *Biodiversitas.* 2004; 55:2-7. Disponible en: http://www.conabio.gob.mx/institucion/conabio_espanol/doctos/Biodiv55.pdf
- [8]. Custódio V, Gonin M, Stabl G, Bakhoun N, Oliveira MM, Gutjahr C, *et al.* Sculpting the soil microbiota. *TPJ.* 2022; 109 (3), 508-522. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tpj.15568?msockid=2fa08a48afb36a8f2b698477ae916bb5>

- [9]. Meena VS, Meena SK, Verma JP, Kumar A, Aeron A, Mishra PK, *et al.* Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: A review. *Ecol. Eng.* 2017;107: 8-32. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925857417303865?via%3Dihub>
- [10]. Tahat MM, Alananbeh KM, Othman YA, Leskovar DI. Soil health and sustainable agriculture. *Sustainability.* 2020; 12 (12): 4859. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2071-1050/12/12/4859>
- [11]. Lemanceau P, Blouin M, Muller D, Moënne-Loccoz Y. Let the core microbiota be functional. *Trends Plant Sci.* 2017; 22(7): 583-595. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1360138517300882>
- [12]. Prates-Júnior P, Reis-Veloso TG, Soares da Silva M de C, Rodrigues da Luz JM, Oliveira SF, Megumi-Kasuya MC. Soil microorganisms and quality of the coffee beverage. En: Louzada- Pereira L, Rizzo-Moreira T, editores. *Quality determinants in coffee production.* Springer, Cham; 2021. p. 101-147. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-54437-9_3
- [13]. Beltrán-Pineda M, Rocha-Gil ZE, Bernal-Figeroa AA, Pita-Morale LA. Microorganismos funcionales en suelos con y sin revegetalización en el municipio de Villa de Leyva, Boyacá. *Colomb For.* 2017; 20 (2): 158-170. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-07392017000200005
- [14]. Sánchez J, Sanabria J. Metabolismos microbianos involucrados en procesos avanzados para la remoción de nitrógeno, una revisión prospectiva. *Rev Colomb Biotecnol.* 2009; 9 (1): 114-124. Disponible en: http://scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752009000100012
- [15]. Torres M, Lizarazo L. Evaluación de grupos funcionales del ciclo del C, N y P y actividad de la fosfatasa ácida en dos suelos agrícolas del departamento de Boyacá. *Agron.* 2006; 24 (2): 317-325. Disponible en: http://scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652006000200015

- [16]. Harris-Valle C, Valenzuela-Soto E, Sánchez A, Gaitán-Hernández R, Esqueda M. Variability in the ligninolytic enzymes activity by *Lentinula edodes* in submerged culture with lignin and glucose. AJABS. 2014; 9: 369-378. Disponible en: <https://thescipub.com/abstract/ajabssp.2014.369.378>
- [17]. Osma JF, Toca-Herrera JL, Rodríguez-Couto S. 2010. Uses of laccase in the food industry. Enzyme Res. 918761. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2963825/>
- [18]. Bills G, Christensen M, Powell M, Thorn G. Saprobic soil fungi. En: Mueller GM, Bills G, Foster MS, editores. Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods. Elsevier. 2004. p. 271-302. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780125095518500167?via%3Dihub>
- [19]. Domsch KH, Gams W, Anderson TH. 1980. Compendium of soil fungi. Vol.1. London: Academic Press; 1980. 860 p. Disponible en: https://books.google.com.mx/books/about/Compendium_of_Soil_Fungi.html?id=g_UgAQAAIAAJ&redir_esc=y
- [20]. Ellis MB. Dematiaceous Hyphomycetes. England: Mycological Institute, Kew; 1971. 608 p. Disponible en: <https://archive.org/details/dematiaceoushyph0000elli>
- [21]. Ellis MB. More dematiaceous Hyphomycetes. England: Mycological Institute, Kew; 1976. 507 p. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01989814>
- [22]. Matsushima T. Matsushima Mycological Memories No. 7. Japan: Kobe; 1993. 75 p. Disponible en: <https://biotanz.landcareresearch.co.nz/references/54bea920-8b0c-4a4c-976e-87bf09e4d873>
- [23]. Sundara RW, Sinha MK. Phosphate dissolving organisms in the soil and rizosphere. Indian J. Sci. 1963; 33: 272-278. Disponible en: <https://eurekamag.com/research/025/231/025231385.php>
- [24]. Rubilar-Araneda O. Biorremediación de suelos contaminados con pentaclorofenol (PCF) por hongos de pudrición blanca. [Tesis doctoral]. Chile: Universidad de la Frontera; 2007. 133 pp. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/212656084/Rubilar-2007-Biorremediacion-de->

[suelos-contaminados-con-Pentaclofenol-PCF-por-hongos-de-pudricion-blanca-pdf](#)

[25]. Arias RM, Heredia G. Fungal diversity in coffee plantation systems and in a tropical montane cloud forest in Veracruz, Mexico. *Agroforest Syst.* 2014; 88: 921–933. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10457-014-9736-z>

[26]. Posada R, Sánchez de Prager M, Sieverding E, Aguilar-Dorantes K, Heredia-Abarca GP. Relaciones entre los hongos filamentosos y solubilizadores de fosfatos con algunas variables edáficas y el manejo de cafetales. *Rev Biol Trop.* 2012; 60 (3): 1075-1096. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442012000300010

[27]. Arias RM, Heredia G, Perea YDC, de la Cruz EY, García GKY. Selection and Characterization of Phosphate-Solubilizing Fungi and Their Effects on Coffee Plantations. *Plants.* 2023;12(19): 3395. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/19/3395>

[28]. Urgiles-Gómez N, Loján P, Ávila-Salem ME, Benavidez-Silva C, Hurtado L, Livisaca F, *et al.* Microorganismos benéficos con potencial agrícola: Una alternativa sostenible para la producción de café y calidad del suelo. *Cedamaz.* 2023; 13(1): 103-113. Disponible en: <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/cedamaz/article/view/1310>

[29]. Oliveros BADJ, Macías FA, Fernández CC, Marín D, Molinillo JM. Exudados de la raíz y su relevancia actual en las interacciones alelopáticas. *Quim. nova* 2009; 32: 198-213. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/qn/a/3dP55YM7pzCkFYsWMWczVzD/>

[30]. Perea YDC, Arias RM, Medel R, Trejo D, Heredia G, Rodríguez YY. Effects of native arbuscular mycorrhizal and phosphate-solubilizing fungi on coffee plants. *Agrofor Syst.* 2019; 93: 961-972. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10457-018-0190-1>

[31]. Chan CW, Heredia G, Rodríguez VR. Aislamiento y evaluación de la actividad enzimática ligninolítica de macromicetos del estado de Veracruz, México. *Rev Int Contam.* 2016; 32 (3): 339-351. Disponible en:

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992016000300339

[32]. Camacho-Morales RL, Gerardo-Gerardo JL, Navarro KG, Sánchez JE. Producción de enzimas ligninolíticas durante la degradación del herbicida paraquat por hongos de la pudrición blanca. RAM. 2017; 49 (2): 189-196. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754117300135>

[33]. Pozdnyakova NN. Involvement of the Ligninolytic System of White-Rot and Litter-Decomposing Fungi in the Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Biotechnol Res Int. 2012; (1): 243217. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2012/243217?msocid=2fa08a48afb36a8f2b698477ae916bb5>

[34]. Calle JE, Villegas RP, Álvarez MT, Gimenez A, Terrazas EL. Optimización de las Condiciones de Cultivo para la Producción de Enzimas Redox por *Aspergillus niger* QD y *Pestalotia* sp 2iQRJ. Biofarbo. 2007; 15: 29. Disponible en: http://revistasbolivianas.umsa.bo/scielo.php?pid=S1813-53632007000100005&script=sci_arttext&tlng=es

[35]. Vargas-García M, Suárez-Estrella F, López M, Moreno J. Microbial population dynamics and enzyme activities in composting processes with different starting materials. J Waste Manag. 2010; 30(5): 771-778. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X10000097>

[36]. Bastias B, Anderson I, Rangel-Castro I, Parkin P, Prosser J, Cairney W. Influence of repeated prescribed burning on incorporation of ¹³C from cellulose by forest soil fungi as determined by RNA stable isotope probing. SBB. 2009; 41(3): 467-472. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0038071708004252>

[37]. Bronick C, Lal R. Soil structure and management: a review. Geoderma. 2005; 124: 3-22. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016706104000898>

[38]. Consentino D, Cheng C, Bissonnais L. Aggregate stability and microbial community dynamics under drying-wetting cycles in a silt loam soil. SBB. 2006; 38: 2053-2062. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0038071706000848>

- [39]. Dias A, Freitas G, Marques G, Sampaio A, Fraga I, Rodrigues M, *et al.* Enzymatic saccharification of biologically pre-treated wheat straw with white-rot fungi. *Bioresour.* 2010; 101(15): 6045-6050. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852410004566>
- [40]. Ortiz-Moreno ML, Uribe-Vélez D. Determination of lignocellulolytic activity in a natural substrate of native fungi strains obtained from pasture savanna and of secondary forest from a tropical flooded savanna. *Cl. Suelo.* 2010; 28 (2): 169-180. Disponible en: https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1850-20672010000200005
- [41]. Chan-Cupul W, Heredia G, Rodríguez-Vázquez R, Salmones D, Gaitán-Hernández R, Alarcón-Gutiérrez E. Response of ligninolytic macrofungi to the herbicide atrazine: dose-response bioassays. *RAM* . 2014; 46 (4): 348-357. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S032575411470094X>
- [42] Huifang X, Li Q, Wang M, Zhao L. Production of a recombinant laccase from *Pichia pastoris* and biodegradation of chlorpyrifos in a laccase/vanillin system. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2013; 23: 864-871. Disponible en: <https://www.jmb.or.kr/journal/view.html?doi=10.4014/jmb.1212.12057>