

ISSN-0120-0275  
ISSN-2711-3477 (En línea)  
DOI-10.38141/10778

# Cenicafé

Revista del  
Centro Nacional de Investigaciones de Café



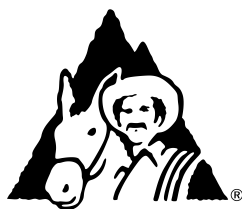
**Federación Nacional de  
Cafeteros de Colombia**

---

Volumen 71 Número 1

Enero - Junio 2020





**Federación Nacional de  
Cafeteros de Colombia**

**COMITÉ NACIONAL**

---

**Ministro de Hacienda y Crédito Público**

Alberto Carrasquilla Barrera

**Ministro de Agricultura y Desarrollo Rural**

Rodolfo Zea Navarro

**Ministro de Comercio, Industria y Turismo**

José Manuel Restrepo Abondano

**Director del Departamento Nacional de Planeación**

Luis Alberto Rodríguez Ospino

**Representante del Gobierno en Asuntos Cafeteros**

Nicolás Pérez Marulanda

Periodo 1° enero/2019 - diciembre 31/2022

José Eliecer Sierra (Antioquia)

José Alirio Barreto (Boyacá)

Eugenio Vélez Uribe (Caldas)

Danilo Reinando Vivas (Cauca)

Juan Camilo Villazón (Cesar-Guajira)

Javier Bohórquez Bohórquez (Cundinamarca)

Ruber Bustos Ramírez (Huila)

Javier Mauricio Tovar (Magdalena)

Jesús Armando Benavides (Nariño)

Armando Amaya Álvarez (Norte de Santander)

Carlos Alberto Cardona (Quindío)

Luis Miguel Ramírez (Risaralda)

Héctor Santos Galvis (Santander)

Olivo Rodríguez Díaz (Tolima)

Camilo Restrepo Osorio (Valle)

**Gerente General**

Roberto Vélez Vallejo

**Gerente Administrativo y Financiero**

Juan Camilo Becerra Botero

**Gerente Comercial**

Juan Camilo Ramos Mejía

**Gerente Técnico**

Hernando Duque Orrego

**Director Investigación Científica y Tecnológica**

Álvaro León Gaitán Bustamante

**Uso del material de esta revista:**

---

Aquellas personas que deseen usar en otras publicaciones, ilustraciones o datos publicados en la Revista Cenicafé, deben obtener el permiso del Centro Nacional de Investigaciones de Café y del autor del artículo y reconocer por escrito los créditos a la Revista Cenicafé como fuente original del material.

Los trabajos suscritos por el personal técnico del Centro Nacional de Investigaciones de Café son parte de las investigaciones realizadas por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Sin embargo, tanto en este caso como en el de personas no pertenecientes a este Centro, las ideas emitidas por los autores son de su exclusiva responsabilidad y no expresan necesariamente las opiniones de la Entidad.

La Revista Cenicafé, órgano divulgativo del Programa de Investigación Científica de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia y el Fondo Nacional del Café se publica semestralmente.

---

Editada en junio de 2020  
Tel: 57(6)8500707 Fax: 57(6)8504723 A.A.: 2427 Manizales  
E-mail: [cenicafe@cafedecolombia.com](mailto:cenicafe@cafedecolombia.com)  
[www.cenicafe.org](http://www.cenicafe.org)

# Cenicafé

Revista del Centro Nacional de Investigaciones de Café

Manizales - Caldas - Colombia

---

VOL. 71

ENERO - JUNIO 2020

No. 1

---

## CONTENIDO

<b>CORRECCIÓN DE LA ACIDEZ DEL SUELO: ALTERACIONES QUÍMICAS DEL SUELO.</b> Siavosh Sadeghian Khalajabadi; Carolina Díaz Marín .....	7
<b>SOIL ACIDITY CORRECTION: SOIL CHEMICAL ALTERATIONS</b> .....	7
<b>CORRECCIÓN DE LA ACIDEZ DEL SUELO: EFECTOS EN EL CRECIMIENTO INICIAL DEL CAFÉ.</b> Siavosh Sadeghian Khalajabadi; Carolina Díaz Marín .....	21
<b>SOIL ACIDITY CORRECTION: EFFECTS ON INITIAL COFFEE GROWTH</b> .....	21
<b>ESTUDIO DE LOS FACTORES LIMITANTES PARA LA OBTENCIÓN DE PLANTAS HAPLOIDES DE <i>Coffea arabica</i>.</b> Ligia Belén Suescún Peñaranda; Juan Carlos Herrera Pinilla; José Ricardo Acuña Zornosa .....	32
<b>STUDY OF THE LIMITING FACTORS FOR OBTAINING HAPLOID PLANTS FROM <i>Coffea arabica</i></b> .....	32
<b>LA FERTILIZACIÓN MINERAL COMO COMPLEMENTO A LA FERTILIZACIÓN CON ABONO ORGÁNICO EN EL CULTIVO DEL CAFÉ.</b> Fernando Farfán Valencia; José Enrique Baute Balcázar .....	48
<b>MINERAL FERTILIZATION AS A COMPLEMENT TO ORGANIC FERTILIZATION IN COFFEE CULTIVATION</b> .....	48
<b>PRODUCCIÓN DE CAFÉ EN RESPUESTA AL FRACCIONAMIENTO DE LA FERTILIZACIÓN.</b> Hernán González Osorio; Siavosh Sadeghian Khalajabadi .....	54
<b>COFFEE YIELD RESPONSE TO SPLIT FERTILIZATION</b> .....	54
<b>RESISTENCIA GENÉTICA A LA ENFERMEDAD DE LA CEREZA DEL CAFÉ EN VARIEDADES CULTIVADAS EN COLOMBIA.</b> Carlos Ernesto Maldonado Londoño; Lucía Ángel Giraldo; Claudia Patricia Flórez Ramos .....	68
<b>GENETIC RESISTANCE TO COFFEE BERRY DISEASE ON COFFEE VARIETIES CULTIVATED IN COLOMBIA</b> .....	68

## COMITÉ EDITORIAL

Pablo Benavides M.

Luis Fernando Salazar G.

Carmenza Esther Góngora B.

José Ricardo Acuña Z.

Diana María Molina V.

Ph.D. Ing. Agrónomo. Entomología, Cenicafé

Ph.D. Ing. Agrónomo. Suelos, Cenicafé

Ph.D. Microbióloga. Entomología, Cenicafé

Ph.D. Biólogo. Fisiología Vegetal, Cenicafé

Ph.D. Bacterióloga. Mejoramiento Genético, Cenicafé

# CORRECCIÓN DE LA ACIDEZ DEL SUELO: ALTERACIONES QUÍMICAS DEL SUELO

Siyavosh Sadeghian Khalajabadi \*, Carolina Díaz Marín \*\*

Sadeghian, S., & Díaz-Marín, C. (2020). Corrección de la acidez del suelo: Alteraciones químicas del suelo. *Revista Cenicafé*, 71(1), 7-20. <https://doi.org/10.38141/10778/1116>

La alternativa más común para corregir la acidez del suelo consiste en el empleo de enmiendas calcáreas. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto del encalamiento en la fertilidad de algunos suelos representativos de la zona cafetera de Colombia. Se evaluaron las propiedades químicas de cinco suelos luego de un mes de incubación con cinco dosis de cal (0; 1,25; 2,50; 5,00 y 10,00 g dm<sup>-3</sup>). Los tratamientos afectaron diferencialmente a los suelos en su pH, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, CIC, Al<sup>3+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, saturación de bases y relación de bases intercambiables. El pH del suelo logró explicar con mayor ajuste las variaciones de Al<sup>3+</sup> que el porcentaje de saturación de Al<sup>3+</sup>. La CIC, determinada mediante el acetato de amonio 1 M y con pH=7,0, no fue un método adecuado para determinar el efecto del encalamiento; caso contrario ocurrió con la solución no-tamponada de cloruro de bario. Se presentó una alta correlación entre el porcentaje de saturación de bases y el pH para cada suelo; sin embargo, no se encontró una tendencia que pudiera explicar las variaciones de todos los suelos de manera conjunta. Los cambios de la CIC, generados por el incremento del pH que ocasionó el encalamiento, estuvieron en función de los contenidos de la materia orgánica. Una parte de los contenidos de Ca y Mg determinados en el análisis del suelo correspondió a la fracción no intercambiable, resultado que se relacionó con la baja solubilidad de la cal y soporta su efecto residual.

**Palabras clave:** Encalado, fertilidad del suelo, aluminio, bases intercambiables, CIC.

## SOIL ACIDITY CORRECTION: SOIL CHEMICAL ALTERATIONS

The most common alternative to correct soil acidity consists of using calcareous amendments. The objective of this work of research was to determine the effect of liming on the fertility of some soils representative of the Colombia coffee region. The chemical properties of five soils were evaluated after one month of incubation with five doses of lime (0, 1.25, 2.50, 5.00 and 10.00 g dm<sup>-3</sup>). The treatments differentially affected the soils in their pH, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, CEC, Al<sup>3+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, base saturation and interchangeable base ratio. The pH of the soil evidenced the Al<sup>3+</sup> variations more considerably than the saturation percentage of Al<sup>3+</sup>. CEC, determined by 1M ammonium acetate and with pH=7.0, was not a good method to estimate the effect of liming, whereas the non-buffered solution of barium chloride showed to be effective. There was a high correlation between the bases saturation percentage and the pH for each soil. However, it was not possible to find a trend to explain the variations of all soils together. The changes of CEC, generated by the pH increase caused by liming, were in accordance the organic matter contents. A part of the contents of Ca and Mg, determined in the soil analysis, corresponded to the non-interchangeable fraction, a result that was related to the low solubility of the lime and supports its residual effect

**Keywords:** Liming, soil fertility, aluminum, exchangeable bases, CEC.

\* Investigador Científico III. Disciplina de Suelos, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia. <https://orcid.org/0000-0003-1266-0885>.

\*\* Ingeniera agrónoma, M.Sc. <https://orcid.org/0000-0002-6843-7503>.



En muchas regiones de Colombia la acidez del suelo constituye una limitante potencial para la producción de café (Sadeghian, 2013). Aunque esta condición ocurre de manera natural, principalmente como consecuencia del material parental del suelo en interacción con el clima y los organismos, su magnitud se intensifica en los suelos cultivados, debido a la remoción de las bases intercambiables, calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) y potasio ( $\text{K}^+$ ), a través de las cosechas, la erosión, el uso de los fertilizantes amoniacales, la oxidación de la materia orgánica (MO) y la aplicación de azufre elemental (S) (Sousa et al., 2007; Zapata, 2004). Los suelos ácidos contienen cantidades relativamente altas de aluminio ( $\text{Al}^{3+}$ ) y, a veces, de manganeso ( $\text{Mn}^{2+}$ ), que resultan tóxicas para las plantas; en contraste, son pobres en  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  (Espinosa y Molina, 1999; Havlin et al., 2014; Raij, 2011).

La alternativa más común para corregir la acidez del suelo radica en el empleo de materiales encalantes; práctica que eleva el pH, neutraliza el  $\text{Al}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , proporciona Ca y Mg, aumenta la disponibilidad de fósforo (P) y molibdeno (Mo), favorece la mineralización de la MO, ayuda a la fijación simbiótica de nitrógeno (N), propicia la floculación de los coloides, estimula el crecimiento radical y, por ende, mejora el aprovechamiento por parte de las plantas del agua y de los nutrientes (Raij, 2011). En suelos de carga variable, carga dependiente del pH, el encalado incrementa la Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC), dando como resultado una mayor retención de bases intercambiables. Los anteriores efectos han sido corroborados en investigaciones desarrolladas tanto en Colombia (Sadeghian, 2016; Suárez y Rodríguez, 1956; Valencia y Bravo, 1981; Vinasco et al., 1992), como otros países productores de café (Chaves et al., 1984; Chaves et al., 1988; Corrêa et al., 2007; Navarro y Navarro, 2013; Rodrigues et al., 2006).

Otro aspecto comúnmente considerado en la aplicación de las enmiendas para la corrección de la acidez tiene que ver con las relaciones entre las bases intercambiables (Ca:Mg, Ca:K o Mg:K), ello debido al antagonismo que puede existir entre estos, para ser absorbidos por las raíces de las plantas. En las investigaciones pioneras acerca del tema sobresale el estudio desarrollado por Bear y Toth (1948), quienes concluyen que idealmente un suelo debe contener 65% de  $\text{Ca}^{2+}$ , 10% de  $\text{Mg}^{2+}$  y 5% de  $\text{K}^+$ . La validez de los anteriores criterios ha sido objeto de muchas investigaciones, y aunque algunos autores los consideran pertinentes para café (Corrêa et al., 2007; García, 1981; Malavolta, 2006), en la mayoría de los casos su implementación no resulta posible en razón de las diferencias que se presentan tanto los suelos en sus propiedades, como las enmiendas y los abonos en su solubilidad y efecto residual (Jarvan, 2004).

En razón de que para las condiciones de la zona cafetera de Colombia se cuenta con poca información acerca del tema, en esta investigación se planteó como objetivo, determinar el efecto del encalamiento en las propiedades de suelos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En cinco localidades de la zona cafetera de Colombia, con diferentes grados de acidez (pH entre 4,4 y 5,1), se recolectaron muestras de suelo a 20 cm de profundidad: i) finca cafetera en el municipio de Jamundí (Valle del Cauca); ii) Estación Experimental (EE) Naranjal (Chinchiná, Caldas); iii) EE Paraguaicito (Buenavista, Quindío); iv) EE El Rosario (Venecia, Antioquia) y v) EE San Antonio (Floridablanca, Santander). Las muestras se llevaron al Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, ubicado en el municipio de Manizales (Caldas, Colombia), a  $5^{\circ} 1'$  latitud Norte y  $75^{\circ} 35'$  longitud Oeste, con



1.310 m de altitud, temperatura promedio de 21,7°C y precipitación anual de 2.600 mm.

Las muestras se homogeneizaron mediante volteos y se pasaron por zaranda de 1,0 cm, con el fin de eliminar los terrones grandes. Aproximadamente 500 g de cada suelo se secaron al aire y se analizaron las siguientes propiedades, de acuerdo a los procedimientos descritos por Carrillo (1985): pH, MO, P, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Fe, Mn, CIC y textura (Tabla 1).

Se evaluaron cinco tratamientos, constituidos por cuatro dosis de cal (1,25; 2,50; 5,00 y 10,00 g dm<sup>-3</sup>) y un testigo. El material calcáreo empleado para la corrección de la acidez contenía 46,6% de CaO y 8,1% de MgO. Cada tratamiento fue aplicado a 30 dm<sup>-3</sup> de suelo contenidos en un recipiente plástico y se incubó por 30 días, con humedad a capacidad de campo (agua retenida a presiones entre 0,033 y 1,5 MPa), tiempo después del cual se tomó una muestra para el análisis de las propiedades químicas antes mencionadas, según el protocolo de Carrillo (1985). Adicionalmente, se evaluó la concentración de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) con el kit RQ Flex y la CIC mediante los siguientes métodos: i) saturación con acetato de amonio (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>) 1,0 M a pH=7,0 y desplazamiento con cloruro de sodio (NaCl) 1,0 M (Carrillo (1985), y ii) saturación con una solución no tamponada de cloruro de bario (BaCl<sub>2</sub>) 0,1 M + Cloruro de amonio (NH<sub>4</sub>Cl) 0,1 M y desplazamiento con sulfato de magnesio (MgSO<sub>4</sub>) 0,005M (Gillman, 1979).

Se realizaron análisis de varianza por localidad ( $\alpha=95\%$ ) a través del programa estadístico SAS (*Statistical Analysis System*), versión 9,2 de 2009, y se empleó la regresión lineal (programa Sigmaplot 10,0) con el fin de explicar los cambios de las variables. Se seleccionaron los modelos con mayor coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>), verificando

la significancia de los parámetros de las ecuaciones.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La acidez de los suelos, en sus componentes de pH y Al<sup>3+</sup>, se neutralizó de conformidad con las dosis de la cal, presentando algunas variaciones entre las localidades (Figura 1). Para los suelos de El Rosario, Paraguaicito y Jamundí, el incremento del pH ocurrió de manera lineal, en tanto que para Naranjal y San Antonio tuvo una tendencia de tipo exponencial asintótico (Figura 1a). El mayor incremento del pH, calculado por la diferencia entre el tratamiento sin encalar y la dosis más alta de cal, se registró para Jamundí (2,06), mientras que los menores aumentos correspondieron a Paraguaicito (1,10) y El Rosario (1,18); en cuanto a Naranjal y San Antonio, las diferencias entre los valores mínimos y máximos tuvieron un comportamiento intermedio (1,74 y 1,68, respectivamente). Era de esperarse que la aplicación de enmiendas calcáreas en suelos ácidos contribuyera a incrementar los valores de esta propiedad; de allí que los resultados obtenidos confirman los reportes de otras investigaciones (Chaves et al., 1984; Chaves et al., 1988; Corrêa et al., 2007; Pavan y Bingham, 1982; Valencia y Bravo, 1981; Vileta et al., 2010).

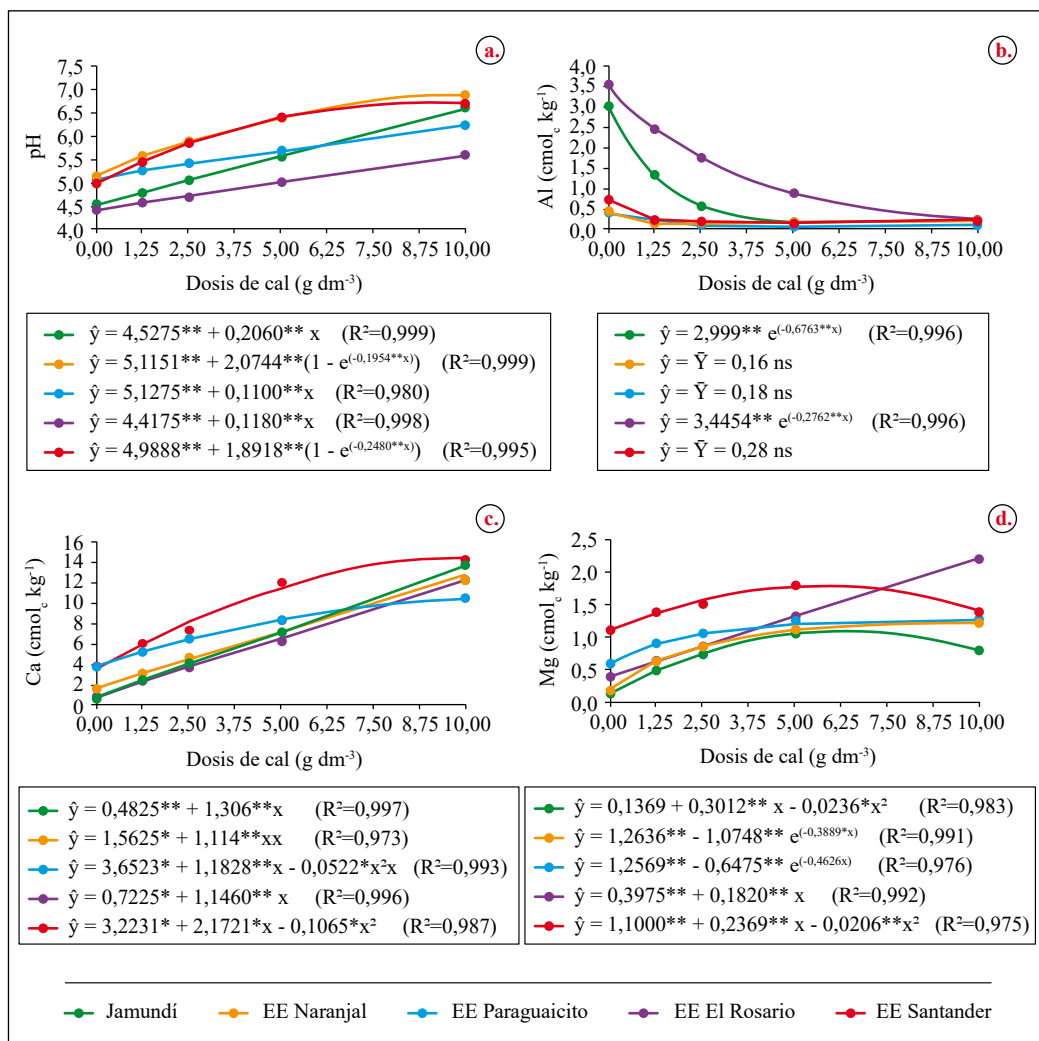
Una mayor resistencia al cambio en el pH, detectado para el suelo de El Rosario, puede atribuirse a una mayor CIC y los altos contenidos de la MO y de Al<sup>3+</sup> (Tabla 1). De acuerdo con Raj (2011), la diferencia que exhiben los suelos en dicha resistencia, poder tampón o búfer, se debe a la CIC; siendo mayor esta propiedad en suelos más ricos en MO y arcilla. Para la zona cafetera de Colombia, diferentes reportes corroboran la relación de la CIC en función de la MO (Sadeghian, 2010; Sadeghian y Zapata, 2012). También debe resaltarse que

**Tabla 1.** Unidad cartográfica, clasificación taxonómica, propiedades químicas, granulometría y textura de los suelos empleados.

U. Cartográfica	Localidad					
	FC <sup>1</sup> Jamundi	EE <sup>2</sup> Naranjal	EE El Rosario	EE Paraguaicito	EE San Antonio	
	Unidad cartográfica y clase taxonómica					
	200	Chinchiná	Chinchiná	Montenegro	Paujil	
Clase taxonómica	Typic Dystrupepts	Acruoxic Melanudands	Pachic Melanudands	Andic Dystrupepts	Typic Dystrandepts	
	Propiedades químicas					
pH <sup>a</sup>	4,5	5,1	4,4	5,1	5,0	
Materia orgánica (%) <sup>b</sup>	9,90	8,7	18,00	6,40	12,5	
N (%) <sup>c</sup>	0,40	0,36	0,63	0,28	0,48	
K (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>d</sup>	0,12	0,15	0,41	0,41	0,32	
Ca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>d</sup>	0,20	0,80	0,80	3,50	3,50	
Mg (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>d</sup>	0,10	0,20	0,30	0,60	1,10	
Al (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>e</sup>	3,0	0,4	3,5	0,4	0,7	
CIC (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>f</sup>	20	23	33	16	15	
CICE (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>g</sup>	3,42	1,55	5,01	4,91	5,62	
Saturación Al (%) <sup>h</sup>	87,7	25,8	69,9	8,1	12,5	
Saturación bases (%) <sup>i</sup>	2,1	5,0	4,6	28,2	32,8	
P (mg kg <sup>-1</sup> ) <sup>j</sup>	0	2	8	17	4	
Fe (mg kg <sup>-1</sup> ) <sup>k</sup>	325	101	148	114	407	
Mn (mg kg <sup>-1</sup> ) <sup>k</sup>	6	13	52	27	26	
<b>Granulometría y textura</b>						
A (%) <sup>l</sup>	23	53	45	67	51	
L (%) <sup>l</sup>	24	34	26	20	20	
Ar (%) <sup>l</sup>	53	13	29	13	29	
Textura	Ar	FA	FARa	FA	FARa	

<sup>1</sup> Finca cafetera, <sup>2</sup> Estación Experimental de Cenicafé.

<sup>a</sup> potenciométrico (H<sub>2</sub>O, 1:1), <sup>b</sup> Walkley-Black, <sup>c</sup> Semimicro Kjeldahl, <sup>d</sup> Ac. Amonio 1,0 M pH=7,0 extractante, <sup>e</sup> KCl 1,0 M extractante, <sup>f</sup> Ac. Amonio 1,0 M pH=7,0 extractante, <sup>g</sup> Ca<sup>2+</sup> + Mg<sup>2+</sup> + K<sup>+</sup> + Al<sup>3+</sup>, <sup>h</sup> Al<sup>3+</sup>, <sup>i</sup> (Ca<sup>2+</sup> + Mg<sup>2+</sup> + K<sup>+</sup>) 100/CIC, <sup>j</sup> Bray II extractante, <sup>k</sup> EDTA 0,01 M y Ac. amonio 1,0 M extractante, <sup>l</sup> Bouyucos.



**Figura 1.** Variaciones del pH (a), Al<sup>3+</sup> (b), Ca<sup>2+</sup> (c) y Mg<sup>2+</sup> (d) en respuesta a las dosis de cal. ns: No significativo. \* significativo (p<0,05), \*\* altamente significativo (p<0,01).

la elevada capacidad tampón de los Andisoles ha sido relacionada con la superficie muy reactiva de las arcillas de estos suelos, alófana, imogolita y complejos humus-Al, resultantes de la meteorización de las cenizas volcánicas (Espinosa y Molina, 1999). Con respecto al suelo de Paraguaicito, por su textura más arenosa y menor contenido de MO, se hubieran esperado mayores incrementos

del pH a dosis más bajas de cal, por su reducido poder relativo de amortiguación, como lo señalan Havlin et al. (2014). El incremento limitado del pH en este suelo, posiblemente estaría relacionado con el lavado del material encalante en conformidad a los riegos, una menor retención de humedad, necesaria para la reacción de la cal, y la presencia de la alófana.

La adición de cal disminuyó de manera significativa el  $\text{Al}^{3+}$  en los suelos de Jamundí y El Rosario, mientras que para los demás suelos no se detectaron cambios estadísticamente significativos (Figura 1b); lo anterior debido a sus bajos contenidos del elemento (Tabla 1). Esta reducción se justifica por la producción de complejos hidroxilo-aluminios, hasta llegar a la forma  $\text{Al}(\text{OH})_3$ ; especie química insoluble que tiende a precipitar cuando el pH alcanza valores cercanos a la neutralidad (Sousa, 2007). La efectividad del encalamiento para la neutralización del  $\text{Al}^{3+}$  en suelos ácidos destinados al cultivo de café ha sido corroborada en otras investigaciones realizadas por Chaves et al. (1988), Pavan y Bingham (1982), Rodrigues et al. (2006), Sadeghian (2016) y Valencia (1981).

Las variaciones del  $\text{Al}^{3+}$  en función de las dosis de la cal fueron explicadas mediante el modelo exponencial (Figura 1b); lo cual indica que las primeras tres dosis de la enmienda (hasta  $5 \text{ g dm}^{-3}$ ) tuvieron un efecto mayor en la neutralización de este, que la última ( $10 \text{ g dm}^{-3}$ ). Similares resultados han sido obtenidos por Rodrigues et al. (2001), Rodrigues et al. (2006) y Sadeghian (2003, 2013). Cabe resaltar que para el suelo de Jamundí la tasa de la disminución de  $\text{Al}^{3+}$  fue mayor que el suelo de El Rosario; alcanzando de esta manera valores cercanos a cero con cantidades menores,  $5,0 \text{ g dm}^{-3}$  de cal frente a  $10,0 \text{ g dm}^{-3}$ . Esta diferencia puede atribuirse al aumento del pH registrado en el suelo de Jamundí y menor capacidad búfer, determinada por los contenidos más bajos de MO y de CIC.

Los contenidos de  $\text{Ca}^{2+}$  se incrementaron con las dosis suministradas (Figura 1c), lo cual justifica el empleo de materiales encalantes como fuente de este elemento, además de la corrección de la acidez. Para los suelos de Jamundí y las Estaciones Naranjal y El Rosario el aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  fue proporcional

a las cantidades aplicadas (tendencia lineal), en tanto que para San Antonio y Paraguaicito el comportamiento fue decreciente (tendencia cuadrática). El suelo de Paraguaicito exhibió el menor incremento de este elemento, pasando de  $3,5$  a  $10,3 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ , resultado que concuerda con los cambios registrados para pH de esta localidad, relacionado con la capacidad de retención de humedad y la posible pérdida por lavado del material encalante. Espinosa y Molina (1999) sostienen que, en los suelos de textura liviana, la lixiviación de Ca y Mg proveniente de la cal es mayor y, por lo tanto, se sugiere aumentar la frecuencia del encalado.

En el suelo de El Rosario, el  $\text{Mg}^{2+}$  intercambiable se incrementó de manera proporcional a las dosis de cal suministradas (Figura 1d), mientras que en los demás suelos los contenidos exhibieron aumentos hasta la dosis de  $5,00 \text{ g dm}^{-3}$ , para luego estabilizarse o presentar reducciones.

En otros trabajos se reportan incrementos de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  al emplear la dolomita (Chaves et al., 1984; Chaves et al., 1988; Freiria et al., 2008; Pavan y Bingham, 1982; Rodrigues et al., 2006; Valencia y Bravo, 1981); sin embargo, es razonable pensar que no todo el Ca y Mg detectado en el análisis de suelo es realmente intercambiable, en especial cuando se aplicaron las dosis más altas; consideración que se soporta en la residualidad de la cal y las deficiencias de las metodologías analíticas en determinar sólo la fracción intercambiable (Soratto y Crusciol, 2008; Raij et al., 1982).

Las diferencias entre los suelos para retener tanto el  $\text{Ca}^{2+}$  como  $\text{Mg}^{2+}$  en la fase intercambiable pueden relacionarse con diversas causas, principalmente la CIC, el pH, la presencia de otros cationes y el tipo de arcilla, además de la selectividad de los minerales presentes por cada elemento (Bohn

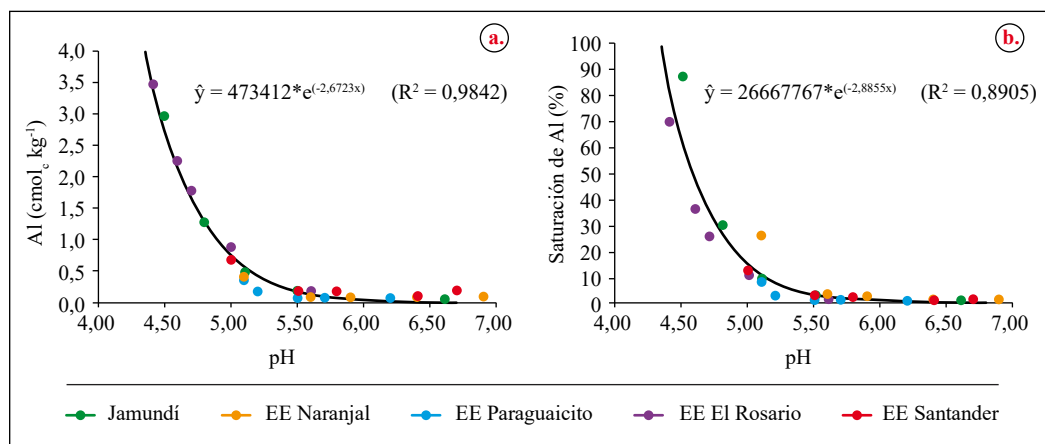
et al., 2001; Essington, 2015). En cuanto a la disminución del  $Mg^{2+}$  intercambiable con las dosis más altas de cal, la principal causa estaría relacionada con el aumento de la competencia ejercida por el  $Ca^{2+}$ .

Como era de esperarse, los contenidos del  $Al^{3+}$  intercambiable presentaron una relación estrecha con el pH (Figura 2a), y aunque los valores de saturación de  $Al^{3+}$  también exhibieron una tendencia similar (Figura 2b), su correlación presentó menor ajuste, en términos de coeficiente de determinación del modelo ( $R^2$ ). Los cambios observados se consideran comunes (Havlin et al., 2014; Pavan y Bingham, 1982; Sadeghian, 2003; Sadeghian y Zapata, 2012; Wagatsuma y Ezoe, 1985) e indican que la magnitud en la reducción del  $Al^{3+}$  es mayor para valores del pH menor a 5,0. De acuerdo con los modelos obtenidos, para valores de pH entre 5,0 y 5,5, rango considerado como óptimo para el café, se presentaron los siguientes intervalos de  $Al^{3+}$  y saturaciones de  $Al^{3+}$ : 0,75 a 0,20  $cmol_c\ kg^{-1}$  y 14,46 a 3,42%, respectivamente.

Para cada suelo empleado el modelo lineal explicó el incremento del pH en

función del porcentaje de saturación de bases intercambiables (Figura 3); a pesar de ello, no se encontró una tendencia común que pudiera explicar las variaciones de todos de manera conjunta; en este sentido, el suelo de Naranjal se diferenció de las demás localidades. Lo anterior sugiere que dos suelos pueden tener el mismo pH, pero con valores diferentes de la saturación de bases. Aunque los requerimientos de la cal pueden calcularse tanto con base en el pH como en la saturación de bases (Quaggio, Raij y Malavolta, 1985), los valores de saturaciones encontrados para dos regiones pueden ser diferentes (Raij, 2011), afirmación que concuerda con lo hallado en este estudio. De acuerdo con Raij (2011) una saturación de bases equivalente al 50% se alcanza cuando el pH del suelo es igual a 5,5; condición que no se cumplió para los suelos empleados.

El aumento en las dosis de la cal se vio reflejado en la disminución de los contenidos del Fe y parcialmente Mn (Tabla 2); entretanto, se incrementaron los niveles de los nitratos ( $NO_3^-$ ), resultado que se relaciona con el aumento en la mineralización de la MO del suelo (Chaves et al., 1988). En cuanto al P y K, los cambios fueron leves o no ocurrieron.



**Figura 2.** Variaciones del  $Al^{3+}$  intercambiable (a) y saturación de  $Al^{3+}$  (b) en función el pH.

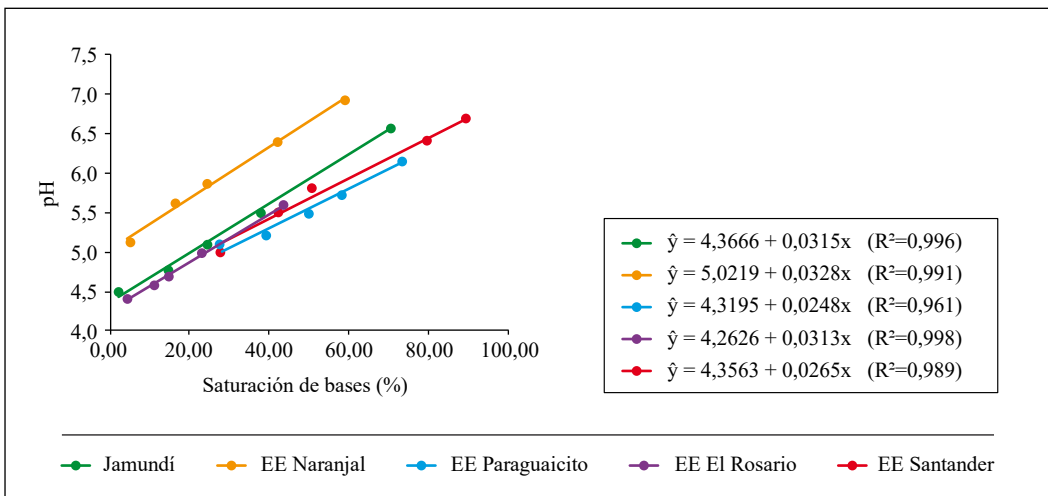
En investigaciones similares también hallaron evidencias del aumento en los contenidos de  $\text{NO}_3^-$  en respuesta al encalamiento (Chaves et al., 1988, Suárez y Rodríguez, 1956) y disminución del Mn (Chaves et al., 1988; Valencia y Bravo, 1981).

El incremento de las cantidades suministradas de cal modificó las relaciones entre las bases intercambiables (Ca:Mg, Ca:K y Mg:K), haciendo que fueran cada vez más amplias (Tabla 3). El incremento de  $\text{Ca}^{2+}$  con respecto al  $\text{Mg}^{2+}$  se debe, en primer lugar, a la preferencia de los suelos por el  $\text{Ca}^{2+}$ , explicado por su menor radio iónico hidratado con respecto al  $\text{Mg}^{2+}$  (Bohn et al., 2001; Essington, 2015; Navarro y Navarro, 2013) y, en segunda instancia, a una mayor competencia de  $\text{Ca}^{2+}$  al incrementar las dosis de la enmienda, la cual disminuyó la retención del  $\text{Mg}^{2+}$  en la fase de cambio. En cuanto al  $\text{K}^+$ , era de esperarse que su proporción frente a  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  disminuyera, pues este no se aplicó; adicionalmente, el  $\text{K}^+$ , por poseer una menor valencia es retenido con menor fuerza en los sitios de intercambio.

Corrêa et al. (2007) y Vilela et al. (2010) también registraron aumentos en la relación Ca:Mg con la aplicación de dosis crecientes de dolomita; en contraste, en el estudio desarrollado para café por Chaves et al. (1984), se encontraron incrementos de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  frente al  $\text{K}^+$ , pero reducción de  $\text{Ca}^{2+}$  con respecto al  $\text{Mg}^{2+}$ .

Los incrementos registrados fueron disímiles para los suelos estudiados (Tabla 3), respuesta que tiene su origen en las diferencias que exhiben en sus propiedades, especialmente la selectividad catiónica; por ejemplo, para el suelo de El Rosario, donde los aumentos del  $\text{Mg}^{2+}$  fueron más altos, una mayor preferencia por el catión, se presentaron los menores valores para la relación Ca:Mg. Lo anterior tiene implicaciones en los aspectos prácticos, pues al aplicar una misma dosis de enmienda se ocasionarán relaciones diferentes, según el tipo de suelo.

Para suelos ácidos y de carga variable, como los empleados en este estudio, se espera que la CIC se incremente en conformidad al



**Figura 3.** Saturación de bases intercambiables en función del pH.

aumento del pH que genera el encalamiento (Chaves et al., 1984, Pavan y Bingham, 1982; Vilela, 2010); efecto que se relaciona con la ionización de los grupos -OH de las arcillas y del humus (Bohn et al., 2001; Essington, 2015; Navarro y Navarro, 2013). Al respecto, los valores de la CIC, determinados mediante el acetato de amonio (AA) con pH=7,0, no se modificaron con los tratamientos (Figura 4a), no así los obtenidos a través de la solución no-tamponada de cloruro de bario (CB) (Figura 4b). Lo anterior sugiere que la valoración de la CIC con CB puede explicar de manera más acertada el efecto de la corrección de la acidez sobre esta propiedad. Cuando se emplea el AA, el pH de la solución se eleva casi a la neutralidad, haciendo que la CIC alcance niveles cercanos al máximo posible, enmascarando así el efecto de los tratamientos del encalamiento, lo cual no sucedió con CB, dado que en este se emplea un reactivo no-tamponado. Fauziah et al. (1997) consideran que para los suelos ácidos del trópico la valoración de la CIC mediante el acetato de amonio tamponada (pH=7,0) sólo debe tenerse en cuenta para fines de clasificación, y recomiendan usar la Capacidad de Intercambio Catiónico Efectiva-CICE ( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^{+} + \text{Al}^{3+}$ ) en la evaluación agronómica; sugerencia que coincide con las de Silva y Mendoça (2007).

Para todos los suelos, la CIC obtenida con AA fue mayor que la determinada mediante el empleo de CB (Figura 4), aun cuando se lograron valores de pH cercanos a la neutralidad mediante la aplicación de la dosis más alta de cal. Para Rodrigues et al. (2001) esta situación ocurre debido a que el AA, además de elevar las cargas variables del suelo, disuelve los cationes unidos a carbonatos, los cuales en condiciones reales de campo no estarían disponibles a corto plazo para los cultivos.

El incremento de la CIC en función del pH, medido a través del coeficiente de regresión lineal, fue mayor para el suelo de El Rosario, seguido por Jamundí, Naranjal, San Antonio y Paraguaicito (Figura 5), tendencia que tiene su origen en los contenidos de la MO de los suelos (Tabla 1). La naturaleza de los grupos funcionales de la MO que contribuyen a la superficie de carga dependiente del pH ha sido ampliamente tratada por diversos autores (Bohn et al., 2001; Essington, 2015; Navarro y Navarro, 2013), y la relación de la CIC con la MO reportada para suelos de la zona cafetera de Colombia (Sadeghian, 2010).

Se presentó una relación lineal entre la CIC, valorada por CB, y la CICE (Figura 6). Pese a lo anterior, la ecuación de la regresión indica que los valores de la CICE fueron 62,6% mayores que los de la CIC, sugiriendo así cierta inconsistencia en la metodología analítica, pues ello indica que una fracción de las bases consideradas intercambiables no se encuentra realmente en la fase de cambio. Tratándose de tratamientos con enmiendas, pueden atribuirse las diferencias a la baja solubilidad del material encalante y su efecto residual, el cual define el momento de repetir la aplicación de la enmienda (Soratto y Crusciol, 2008; Rajj et al., 1982).

Las principales conclusiones del presente estudio son:

- El encalamiento afectó diferencialmente a los suelos en su pH,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , CIC,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{NO}_3^-$ , saturación de bases y relación de bases intercambiables.
- El aumento en las cantidades suministradas de cal incrementó las relaciones Ca:Mg, Ca:K y Mg:K.
- La CIC, determinada mediante el acetato de amonio 1 M y con pH=7,0, no fue un

método adecuado para explicar el efecto del encalamiento; caso contrario ocurrió con la solución no-tamponada de cloruro de bario.

- Los cambios de la CIC, generados por el incremento del pH que ocasionó el encalamiento, estuvieron en función de los contenidos de la MO.

- Una parte de los contenidos de Ca y Mg determinados en el análisis del suelo correspondió a la fracción no intercambiable de estos elementos, resultado que se relacionó con la baja solubilidad de la cal y soporta su efecto residual.

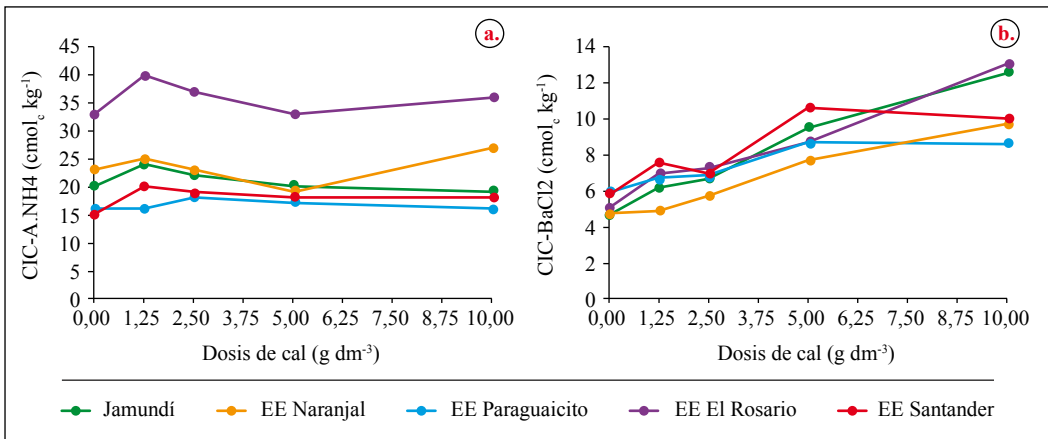
**Tabla 2.** Cambios de K<sup>+</sup>, P, Fe, Mn y nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) del suelo, en respuesta a dosis de cal, aplicada en cinco suelos de la zona cafetera.

Dosis de cal (g dm <sup>-3</sup> )	K (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	P (mg kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )
<b>FC Jamundí</b>					
0,00	0,12	0	325	6	0
1,25	0,20	1	323	6	15
2,50	0,31	1	260	7	10
5,00	0,20	1	247	7	12
10,00	0,22	2	147	7	31
<b>EE Naranjal</b>					
0,00	0,15	2	101	13	22
1,25	0,17	2	104	13	23
2,50	0,20	3	90	11	28
5,00	0,18	3	79	10	42
10,00	0,18	2	58	7	46
<b>EE Paraguaicito</b>					
0,00	0,41	17	114	27	18
1,25	0,49	20	99	23	77
2,50	0,49	25	80	16	104
5,00	0,47	19	86	20	111
10,00	0,44	17	67	15	136
<b>EE El Rosario</b>					
0,00	0,41	8	148	52	90
1,25	0,85	6	153	33	81
2,50	0,83	8	148	32	95
5,00	0,79	5	135	27	85
10,00	0,78	3	98	20	78
<b>EE San Antonio</b>					
0,00	0,32	4	407	26	0
1,25	0,40	2	387	21	0
2,50	0,40	2	341	21	11
5,00	0,41	3	199	16	19
10,00	0,41	5	177	16	81

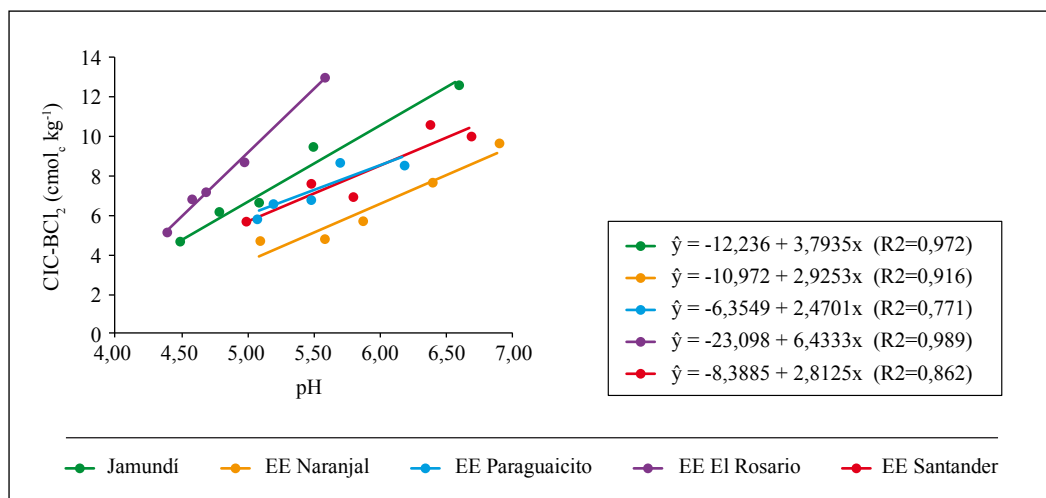


**Tabla 3.** Cambios en la relación entre cationes intercambiables del suelo en función de las dosis de cal.

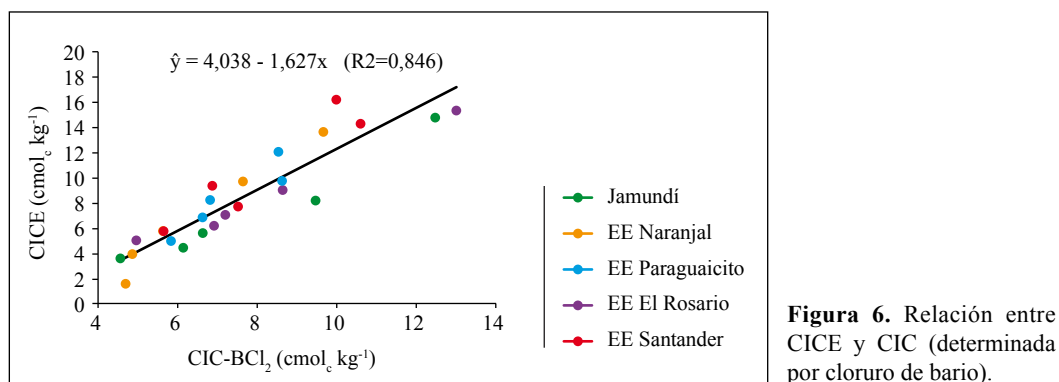
Dosis de cal (g dm <sup>-3</sup> )	FC	EE	EE	EE	EE
	Jamundí	Naranjal	Paraguaicito	El Rosario	San Antonio
<b>(Ca:Mg)</b>					
0,00	2,0:1	4,0:1	5,8:1	2,7:1	3,2:1
1,25	4,8:1	5,0:1	5,7:1	3,4:1	4,1:1
2,50	5,0:1	5,8:1	6,0:1	3,9:1	4,8:1
5,00	6,7:1	6,8:1	7,3:1	4,6:1	6,7:1
10,00	17,0:1	10,1:1	7,9:1	5,6:1	10,1:1
<b>(Ca:K)</b>					
0,00	1,7:1	5,3:1	8,5:1	2,0:1	10,9:1
1,25	12,0:1	17,6:1	10,4:1	2,8:1	14,5:1
2,50	12,9:1	23,0:1	13,5:1	4,2:1	18,0:1
5,00	33,5:1	45,6:1	17,0:1	7,6:1	29,3:1
10,00	61,8:1	67,2:1	23,4:1	15,9:1	34,6:1
<b>(Mg:K)</b>					
0,00	0,8:1	1,3:1	1,5:1	0,7:1	3,4:1
1,25	2,5:1	3,5:1	1,8:1	0,8:1	3,5:1
2,50	2,6:1	4,0:1	2,2:1	1,1:1	3,8:1
5,00	5,0:1	6,7:1	2,3:1	1,6:1	4,4:1
10,00	3,6:1	6,7:1	3,0:1	2,8:1	3,4:1



**Figura 4.** Cambios en la CIC, evaluada mediante acetato de amonio (a) y cloruro de bario (b), en respuesta a las dosis de cal.



**Figura 5.** Variações de CIC (determinada por cloruro de bário), em função do pH.



**Figura 6.** Relación entre CICE y CIC (determinada por cloruro de bário).

## LITERATURA CITADA

- Bear, F.E., & Toth, S.J. (1948). Influence of Calcium on availability of other soil cations. *Soil Science*, 65(1), 69-74. [https://journals.lww.com/soilsci/citation/1948/01000/influence\\_of\\_calcium\\_on\\_availability\\_of\\_other\\_soil.7.aspx](https://journals.lww.com/soilsci/citation/1948/01000/influence_of_calcium_on_availability_of_other_soil.7.aspx)
- Bohn, H.L., McNeal, B.L., & O'Connor, G.A. (2001). *Soil Chemistry* (3rd ed.). John Wiley & Sons.
- Carrillo, I. F. (1985). *Manual de laboratorio de suelos*. Cenicafé.
- Chaves, J., Pavan, M.A., & Igue, K. (1984). Respostas do cafeeiro à calagem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 19(5), 573-582. <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/15714/9728>
- Chaves, J., Pavan, M.A., & Miyazawa, M. (1988). Redução da acidez subsuperficial em coluna de solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 23(5), 469-476. <http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/viewFile/13891/7877>
- Corrêa, J.B., Pereira-Reis, T.H., Pozza, A., Gontijo, P.T., & Guedes, J. (2007). Índice de saturação por bases na nutrição e na produtividade de cafeeiros Catuaí vermelho (*Coffea arabica* L.). *Coffee Science*, 2(2), 159-167.

- <https://pdfs.semanticscholar.org/552a/13ccca2a5a05a36e5f83a9ff4f2ed1ff1a10.pdf>
- Espinosa, J., & Molina, E. (1999). *Acidez y encalado de los suelos*. Norcross: International Plant Nutrition Institute. <http://www.cia.ucr.ac.cr/pdf/libros/Acidez%20y%20encalado%20de%20suelos,%20libro%20por%20%20J%20Espinosa%20y%20E%20Molina.pdf>
- Essington, M. (2015). *Soil and water chemistry: an integrative approach* (2 ed). Boca Raton: CRC Press.
- Fauziah, C.I., Jamilah, I., & Syed, S.R. (1997). Anevaluation of cation exchange capacity methods for acid tropical soils. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 20(2-3), 113-119. [http://www.pertanika.upm.edu.my/Pertanika%20PAPERS/JTAS%20Vol.%2020%20\(2&3\)%20Aug.%201997/04%20JTAS%20Vol.20%20\(23\)%201997%20\(Pg%20115-119\).pdf](http://www.pertanika.upm.edu.my/Pertanika%20PAPERS/JTAS%20Vol.%2020%20(2&3)%20Aug.%201997/04%20JTAS%20Vol.20%20(23)%201997%20(Pg%20115-119).pdf)
- Freiria, A.C., Mantovani, J. R., Ferreira, M. E., Cruz, M.C., & Yagi, R. (2008). Alterações em atributos químicos do solo pela aplicação de calcário na superfície ou incorporado. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 30(2), 285-291. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v30i2.1738>
- Garcia, A. (1981). Calagem para o cafeeiro. En E. Malavolta, T. Yamada y J. Guidolin (Eds.), *Nutrição e adubação do cafeeiro* (pp. 103-115). Instituto da Potassa & Fosfato e Instituto Internacional da Potassa.
- Gillman, G. (1979). A proposed method for the measurement of exchange properties of highly weathered soils. *Soil Research*, 17(1), 129-139. <https://doi.org/10.1071/SR9790129>
- Havlin, J.L., Tisdale, S.L., Nelson, W.L., & Beaton, J.D. (2014). *Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management* (8 ed.). New Jersey: Pearson.
- Järvan, M. (2004). Available plant nutrients in growth substrate depending on various lime materials used for neutralising bog peat. *Agronomy Research*, 2(1), 29-37. <https://agronomy.emu.ee/vol021/p2104.pdf>
- Malavolta, E. (2006). *Manual de nutrição mineral de plantas*. Agronômica Ceres.
- Navarro, G., & Navarro, S. (2013). Química agrícola: química del suelo y de nutrientes esenciales para las plantas. (3ra ed). Mundi-Prensa.
- Pavan, M.A., & Bingham, F.T. (1982). Toxicity of aluminum to coffee seedlings grown in nutrient solution. *Soil Science Society of America Journal*, 46(5), 993-997. <https://doi.org/10.2136/sssaj1982.03615995004600050021x>
- Peres-Soratto, R., & Costa-Crusciol, C. A. (2008). Métodos de determinação de cálcio e magnésio trocáveis e estimativa do calcário residual em um Latossolo submetido à aplicação de calcário e gesso em superfície. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32(2), 663-673. <http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v32n2/21.pdf>
- Quaggio, J.A., Raij, B., & Malavolta, E. (1985). Alternative use of the SMP buffer solution to determine lime requirement of soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 16(3), 245-260. <https://doi.org/10.1080/00103628509367600>
- Raij, B. (2011). *Fertilidade do solo e manejo de nutrientes*. International Plant Nutrition Institute.
- Raij, B., Cantarella, H., Camargo, A.P., & Soares, E. (1982). Perdas de cálcio e magnésio durante cinco años em ensaio de calagem. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 6, 33-37. <http://www.embracal.com.br/info-agrico/textos-completos/texto%2021.pdf>
- Rodrigues, L.A., Martinez, H.E.P., Neves, J.C., Novais, R.F., & Mendonça, S.M (2001). Growth response of coffee tree shoots and roots to subsurface liming. *Plant and Soil*, 234(2), 207-214. <https://doi.org/10.1023/A:1017999318532>
- Rodrigues, L.A., Prieto, H.E., Lima, J.C., Ferreira, R., & Mendonça, S. M. (2006). Respostas nutricionais de cafeeiros Catuaí e Icatu a doses de calcário em subsuperfície. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 30(6), 985-995. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832006000600008>
- Sadeghian, S. (2003). Efecto de la fertilización con nitrógeno fósforo, potasio y magnesio sobre las propiedades químicas de suelo cultivados en café. *Revista Cenicafé*, 54(3), 242-257. <http://hdl.handle.net/10778/273>
- Sadeghian, S. (2010). *La materia orgánica: componente esencial en la sostenibilidad de los agroecosistemas cafeteros*. Cenicafé. <http://hdl.handle.net/10778/1113>
- Sadeghian, S. (2013). Nutrición de cafetales. En Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (Ed.), *Manual del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura* (Vol. 2, pp. 85-116). Cenicafé.
- Sadeghian, S. (2016). La acidez del suelo una limitante común para la producción de café. *Avances Técnicos Cenicafé*, 466, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/704>
- Sadeghian, S., & Zapata, R. (2012). Propiedades relacionadas con la adsorción de cationes intercambiables en algunos

- suelos de la zona cafetera de Colombia. *Revista Cenicafé*, 63(2), 79-89. <http://hdl.handle.net/10778/537>
- Silva, I., & Mendonça, E. (2007). Matéria orgânica do solo. En R. Ferreira-Novais, V. Álvarez, N. Barros, R. Fontes, R. Cantarutti, & J. Lima (Eds.), *Fertilidade do solo* (1ra ed., pp. 275-374). Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.
- Sousa, D., Miranda, L., & Oliveira, S. (2007). Acidez do solo e sua correção. En R. Ferreira-Novais, V. Álvarez, N. Barros, R. Fontes, R. Cantarutti, & J. Lima (Eds.), *Fertilidade do solo* (1ra ed., pp. 205-274). Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.
- Suárez, F., & Rodríguez, A. (1956). Aplicación de la cal en cafetos jóvenes. *Revista Cafetera de Colombia*, 12(129), 4294-4301. <http://hdl.handle.net/10778/1108>
- Valencia-Aristizábal, G., & Bravo-Grijalba, E. (1981). Influencia del encalamiento en la producción de cafetales establecidos. *Revista Cenicafé*, 32(1), 3-14. <http://hdl.handle.net/10778/1109>
- Vilela, L.C., Santos, A.C., Barreto, P.M., Brito, S., Silva, J.E.C., & Oliveira, L.B.T. (2010). Propriedades químicas de Latossolo Vermelho em função da aplicação de gessagem e calagem. *Revista Acadêmica Ciência Animal*, 8(1), 19-27. <https://doi.org/10.7213/cienciaanimal.v8i1.10385>
- Vinasco, C., Valencia, G., & Chaves, B. (1992). Cambios químicos en suelos incubados con fuentes y dosis de calcio. *Revista Cenicafé*, 43(1), 5-13. <http://hdl.handle.net/10778/1112>
- Wagatsuma, T., & Ezoe, Y. (1985). Effect of pH on ionic species of aluminum in medium and on aluminum toxicity under solution culture. *Soil Science and Plant Nutrition*, 31(4), 547-561. <https://doi.org/10.1080/00380768.1985.10557463>
- Zapata, R.D. (2004). *Química de la acidez del suelo*. Cargraphics.

# CORRECCIÓN DE LA ACIDEZ DEL SUELO: EFECTOS EN EL CRECIMIENTO INICIAL DEL CAFÉ

Siyavosh Sadeghian Khalajabadi \*, Carolina Díaz Marín \*\*

Sadeghian, S., & Díaz-Marín, C. (2020). Corrección de la acidez del suelo: Efectos en el crecimiento inicial del café. *Revista Cenicafé*, 71(1), 21-31. <https://doi.org/10.38141/10778/1117>

La acidez del suelo ha sido considerada una limitante común para la producción de café en la mayoría de las regiones de Colombia. Esta investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de la corrección de la acidez del suelo en el crecimiento inicial de café (*Coffea arabica* L.). Para cinco suelos representativos de la zona cafetera de Colombia y con valores de  $\text{pH} < 5,2$  se determinó el efecto de dosis crecientes de cal (0,00 1,25, 2,50, 5,00 y 10,00  $\text{g dm}^{-3}$ ) en la biomasa seca total de las plantas, durante la fase de almácigo (seis meses). Con la aplicación de los tratamientos se logró corregir la acidez ( $\text{pH}$  y  $\text{Al}^{3+}$ ) e incrementar los contenidos de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en todos los suelos estudiados, presentando algunas variaciones entre estos. En tres de los suelos se presentó efecto de los tratamientos en la materia seca de las plantas, respuesta que se relacionó principalmente con el aumento del  $\text{pH}$  y la neutralización del  $\text{Al}^{3+}$ . El mayor crecimiento de las plantas (rendimientos relativos entre el 95 y 100%) se asoció con los siguientes rangos de las propiedades e indicadores del suelo:  $\text{pH}$  4,9-5,7,  $\text{Ca}^{2+}$  5,1-11,2  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  0,9-2,1  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ , saturación de bases 21%-45%, Ca:Mg 4,4:1-7,4:1, Ca:K 7:1-37:1, Mg:K 1,4:1-4,8:1,  $\text{Al}^{3+} < 1,1 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$  y saturación de  $\text{Al}^{3+} < 12\%$ .

**Palabras clave:** *Coffea arabica*, etapa de almácigo, encalado,  $\text{pH}$ , aluminio, bases intercambiables.

## SOIL ACIDITY CORRECTION: EFFECTS ON INITIAL COFFEE GROWTH

Soil acidity has been considered a common limiting factor for coffee production in most Colombian regions. The objective of this study was to determine the effect of correcting soil acidity in the initial stage of coffee growth (*Coffea arabica* L.). The effect of increasing lime doses (0.00 1.25, 2.50, 5.00 and 10.00  $\text{g dm}^{-3}$ ) in the total dry biomass of plants during the nursery phase (6 months) was determined in five soils representative of the Colombian coffee zone and with  $\text{pH}$  values  $< 5.2$ . The application of the treatments allowed to correct the acidity ( $\text{pH}$  and  $\text{Al}^{3+}$ ) and to increase the contents of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  in all the studied soils, with some variations among them. Three of the soils showed an effect of the treatments on the dry matter of the plants, a response mainly related to the increase in  $\text{pH}$  and the neutralization of  $\text{Al}^{3+}$ . The strongest growth of the plants (relative yields between 95 and 100%) was associated with the following ranges of soil properties and indicators:  $\text{pH}$  4.9-5.7,  $\text{Ca}^{2+}$  5.1-11.2  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  0.9-2.1  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ , base saturation 21%-45%, Ca: Mg 4.4: 1-7.4: 1, Ca: K 7: 1-37: 1, Mg: K 1.4: 1-4.8: 1,  $\text{Al}^{3+} < 1.1 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$  and saturation of  $\text{Al}^{3+} < 12\%$ .

**Keywords:** *Coffea arabica*, seedling stage, liming,  $\text{pH}$ , aluminum, exchangeable bases.

\* Investigador Científico III. Disciplina de Suelos, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia. <https://orcid.org/0000-0003-1266-0885>.

\*\* Ingeniera agrónoma, M.Sc. <https://orcid.org/0000-0002-6843-7503>.



Entre las limitantes más comunes para la producción de café en Colombia se encuentra la acidez del suelo, siendo la situación más crítica en departamentos como Antioquia, Cundinamarca y Santander (Sadeghian, 2013). En los suelos ácidos las concentraciones altas de aluminio ( $Al^{3+}$ ) y manganeso ( $Mn^{2+}$ ) solubles resultan tóxicas para las plantas; además, se reduce la disponibilidad de algunos nutrientes, principalmente calcio, magnesio, fósforo y nitrógeno (Havlin et al., 2014; Raij, 2011).

La alternativa más común para la corrección de la acidez resulta del uso de enmiendas de reacción básica, particularmente carbonatos de calcio y/o magnesio; práctica que se denomina encalado o encalamiento. El ejercicio del encalado en café (*Coffea arabica* L.) favorece el desarrollo del cultivo, tanto para el crecimiento inicial (Pavan et al., 1982; Rodrigues et al., 2001; Rodrigues et al., 2006) como en la fase productiva (Chaves et al., 1984; Corrêa et al., 2007).

Pese a que en Colombia muchas de las áreas dedicadas al cultivo de café presentan problemas de acidez, son contadas las investigaciones en torno a su manejo; al respecto, puede mencionarse el trabajo realizado por Suárez de Castro y Rodríguez (1956) para cafetales jóvenes y el experimento conducido por Valencia y Bravo (1981) para plantaciones en la fase reproductiva. Con respecto a la etapa de almácigo, se cuenta con la información generada en una investigación realizada por Toro (1994). Cabe resaltar que los resultados obtenidos en los trabajos en mención no fueron concluyentes, pues no revelaron efectos contundentes del encalado en las variables evaluadas (producción o biomasa de la planta).

Por otro lado, diferentes métodos e indicadores han sido propuestos para determinar los requerimientos de la cal; entre los más comunes pueden citarse: el contenido de  $Al^{3+}$

y el respectivo porcentaje de saturación con respecto a Capacidad de Intercambio Catiónico Efectiva-CICE (Kamprath, 1970), el porcentaje de saturación de bases (Raij et al., 1983), la neutralización del  $Al^{3+}$  y el aumento de los tenores de  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  intercambiables (Álvarez y Ribeiro, 1999), el uso de una solución tamponada con el fin de estimar los requerimientos de cal para alcanzar un nivel requerido de pH (Shoemaker et al., 1961) y la incubación. Para condiciones de Colombia se sugiere tener en cuenta el pH y el contenido de  $Ca^{2+}$  (Sadeghian, 2008); en este sentido, los valores que se consideran adecuados para pH están comprendidos entre 5,0 y 5,5, y los contenidos de  $Ca^{2+}$  mayores de  $3,0 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ .

Dado que en el ámbito nacional se cuenta con poca información acerca del tema, en este trabajo se planteó como objetivo, determinar el efecto de la corrección de la acidez del suelo en el crecimiento inicial de café.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La fase experimental de la investigación se desarrolló en el Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, ubicado en el municipio de Manizales, departamento de Caldas, a  $5^{\circ} 1'$  latitud Norte y  $75^{\circ} 35'$  longitud Oeste, con 1.310 m de altitud, temperatura promedio de  $21,7^{\circ}C$  y precipitación anual de 2.600 mm.

En cuatro Estaciones Experimentales de Cenicafé y una finca cafetera se recolectaron muestras de suelo a 20 cm de profundidad, en cafetales que no habían sido encalados durante los últimos cinco años. La selección de los sitios se basó en su acidez ( $pH < 5,2$ ) y el contraste en las propiedades químicas y físicas (Tabla 1). Una vez homogeneizados los suelos mediante volteos y eliminados los terrones grandes con el uso de zaranda, de cada uno, se apartaron 150 decímetros

cúbicos ( $\text{dm}^{-3}$ ); cantidad que fue dividida en cinco porciones de  $30 \text{ dm}^{-3}$  y tratada cada una con las siguientes dosis de cal (46,6% de CaO y 8,1% de MgO), aplicadas como tratamientos: 0,00; 1,25; 2,50; 5,00 y  $10,00 \text{ g dm}^{-3}$ . Posteriormente, los suelos recibieron riego hasta alcanzar humedades cercanas a la capacidad de campo (agua retenida a presiones entre 0,033 y 1,5 MPa) y se incubaron por 30 días (tiempo definido en ensayos previos como suficiente para que reaccionara la mayor parte de la enmienda); por último, se tomó una muestra para el análisis de las propiedades químicas, evaluadas según los procedimientos descritos por Carrillo (1985). Con el propósito de determinar el efecto de los tratamientos en la disponibilidad del nitrógeno nítrico- $\text{NO}^{-3}$ , se valoró esta fracción mediante el método RQ-Flex.

Con el suelo de cada localidad y tratamiento se llenaron 15 bolsas de polietileno negro, con una capacidad de  $2,0 \text{ dm}^3$ , para luego sembrar en ellas plántulas de café variedad Colombia (una por bolsa). Las 75 unidades experimentales de cada suelo, resultantes de cinco tratamientos (dosis de enmienda) x 15 repeticiones de cada suelo, fueron dispuestas bajo el diseño estadístico completamente aleatorio en un umbráculo. Para el manejo agronómico, se tuvieron en cuenta las recomendaciones de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia-FNC (2013) en lo concerniente al manejo de arvenses, riego, sombra y manejo fitosanitario. Después de seis meses de la siembra, se extrajeron del suelo las raíces, se secaron las plantas durante 72 h en estufa, a  $65^\circ\text{C}$ , y se determinó el peso de la materia seca total de cada una.

Se realizó un análisis de varianza por localidad ( $\alpha=95\%$ ) con el fin de determinar el efecto de los tratamientos en la biomasa seca total de las plantas. Mediante el uso de regresiones se seleccionaron modelos para

explicar el efecto de las dosis de cal en las variables de respuesta (planta y suelo). Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico SAS (*Statistical Analysis System*), versión 9,2 de 2009.

Cuando se presentó efecto de los tratamientos en la biomasa de las plantas, se calcularon las dosis de cal requeridas para alcanzar el máximo rendimiento (100%) y el 95% de este, de acuerdo al modelo del mejor ajuste. Posteriormente, se determinaron para este rango los valores correspondientes de pH,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , saturación de  $\text{Al}^{3+}$ , saturación de bases intercambiables y las relaciones Ca:Mg, Ca:K y Mg:K. En este caso, el valor correspondiente al 95% se empleó para calcular el nivel crítico de las propiedades en mención y el intervalo entre el 95% y 100% como el rango adecuado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación de las dosis crecientes del material encalante incrementó el pH,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en todos los suelos, mientras que el  $\text{Al}^{3+}$  disminuyó significativamente para los suelos de Jamundí y El Rosario, donde los contenidos de este elemento eran más altos (Tabla 2). Dado que los tratamientos afectaron de manera diferencial a los suelos en sus contenidos de las bases intercambiables, las relaciones Ca/Mg, Ca/K y Mg/K también presentaron variaciones considerables (Figura 1).

Los tratamientos tuvieron efectos significativos en la biomasa seca total de las plantas desarrolladas en los suelos de Jamundí, El Rosario y Paraguaicito (Figura 2). Con respecto a las primeras dos localidades, la respuesta puede relacionarse con un mayor control de la acidez, debido a sus valores más bajos de pH (4,5 y 4,4, respectivamente) y contenidos elevados de  $\text{Al}^{3+}$  (en su orden  $3,0$  y  $3,5 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ). Reportes similares

**Tabla 1.** Propiedades químicas y textura de las muestras de los suelos empleadas.

		Localidad					
		EE <sup>1</sup> Jamundí	EE <sup>2</sup> Naranjal	EE El Rosario	EE Paraguaicito	EE San Antonio	
Municipio		Jamundí	Chinchiná	Vencia	Buenavista	Floridablanca	
Departamento		Valle del Cauca	Caldas	Antioquia	Quindío	Santander	
		Procedencia					
		Unidad cartográfica y clase taxonómica					
U. Cartográfica	200	Chinchiná	Chinchiná	Chinchiná	Montenegro	Paujil	
Clase taxonómica		Typic Dystrupepts	Acrudoxic Melanudands	Pachic Melanudands	Andic Dystrupepts	Typic Dystrandepts	
		Propiedades del suelo					
pH <sup>a</sup>		4,5	5,1	4,4	5,1	5,0	
Materia orgánica (%) <sup>b</sup>		9,9	8,7	18,0	6,4	12,5	
K (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>c</sup>		0,12	0,15	0,41	0,41	0,32	
Ca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>c</sup>		0,20	0,80	0,80	3,50	3,50	
Mg (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>c</sup>		0,10	0,20	0,30	0,60	1,10	
Al (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>d</sup>		3,0	0,4	3,5	0,4	0,7	
CIC (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>e</sup>		20	23	33	16	15	
CICE (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> ) <sup>f</sup>		3,4	1,6	5,0	4,9	5,6	
Saturación Al (%) <sup>g</sup>		87,7	25,8	69,9	8,1	12,5	
Saturación bases (%) <sup>h</sup>		2,1	5,0	4,6	28,2	32,8	
Textura		Ar	FA	FArA	FA	FArA	

<sup>1</sup> Finca cafetera, <sup>2</sup> Estación Experimental de Cenicafé.

<sup>a</sup> potenciométrico (H<sub>2</sub>O, 1:1), <sup>b</sup> Walkley-Black, <sup>c</sup> Ac. Amonio 1,0 M pH=7,0 extractante, <sup>d</sup> KCl 1,0 M extractante, <sup>e</sup> Ac. Amonio 1,0 M pH=7,0 extractante, <sup>f</sup> Ca<sup>2+</sup> + Mg<sup>2+</sup> + K<sup>+</sup> + Al<sup>3+</sup>, <sup>g</sup> Al<sup>3+</sup>, <sup>h</sup> 100/(CICE<sub>h</sub> (Ca<sup>2+</sup> + Mg<sup>2+</sup> + K<sup>+</sup>) 100/CIC), <sup>i</sup> Bouyucos.



**Tabla 2.** Ecuaciones de regresión para pH, calcio, magnesio y aluminio en función de las dosis de cal suministradas en los suelos evaluados.

Localidad	Ecuación de regresión	R <sup>2</sup>
<b>pH</b>		
FC Jamundí	$\hat{y} = 4,5275^{**} + 0,2060^{**} x$	0,999
EE Naranjal	$\hat{y} = 5,1151^{**} + 2,0744^{**}(1 - e^{(-0,1954^{**}x)})$	0,999
EE Paraguaicito	$\hat{y} = 5,1275^{**} + 0,1100^{**} x$	0,980
EE El Rosario	$\hat{y} = 4,4175^{**} + 0,1180^{**} x$	0,998
EE San Antonio	$\hat{y} = 4,9888^{**} + 1,8918^{**}(1 - e^{(-0,2480^{**}x)})$	0,995
<b>Calcio- Ca<sup>2+</sup> (cmol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup>)</b>		
FC Jamundí	$\hat{y} = 0,4825^{**} + 1,3060^{**} x$	0,997
EE Naranjal	$\hat{y} = 1,5625^{*} + 1,1140^{**} x$	0,973
EE Paraguaicito	$\hat{y} = 3,6523^{*} + 1,18280^{**} x - 0,0522^{*} x^2$	0,993
EE El Rosario	$\hat{y} = 0,7225^{*} + 1,1460^{**} x$	0,996
EE San Antonio	$\hat{y} = 3,2231^{*} + 2,1721^{*} x - 0,1065^{*} x^2$	0,987
<b>Magnesio-Mg<sup>2+</sup> (cmol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup>)</b>		
FC Jamundí	$\hat{y} = 0,1369 + 0,3012^{**} x - 0,0236^{*} x^2$	0,983
EE Naranjal	$\hat{y} = 1,2636^{**} - 1,0748^{**} e^{(-0,3889^{**}x)}$	0,991
EE Paraguaicito	$\hat{y} = 1,2569^{**} - 0,6475^{**} e^{(-0,4626^{**}x)}$	0,976
EE El Rosario	$\hat{y} = 0,3975^{**} + 0,1820^{**} x$	0,992
EE San Antonio	$\hat{y} = 1,1000^{**} + 0,2369^{**} x - 0,0206^{**} x^2$	0,975
<b>Aluminio-Al<sup>3+</sup> (cmol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup>)</b>		
FC Jamundí	$\hat{y} = 2,999^{**} e^{(-0,6763^{**}x)}$	0,996
EE Naranjal	$\hat{y} = \bar{Y} = 0,16$ ns	
EE Paraguaicito	$\hat{y} = \bar{Y} = 0,18$ ns	
EE El Rosario	$\hat{y} = 3,4454^{**} e^{(-0,2762^{**}x)}$	0,996
EE San Antonio	$\hat{y} = \bar{Y} = 0,28$ ns	

\*significancia al 5%; \*\*1% de probabilidad; ns no significativo.

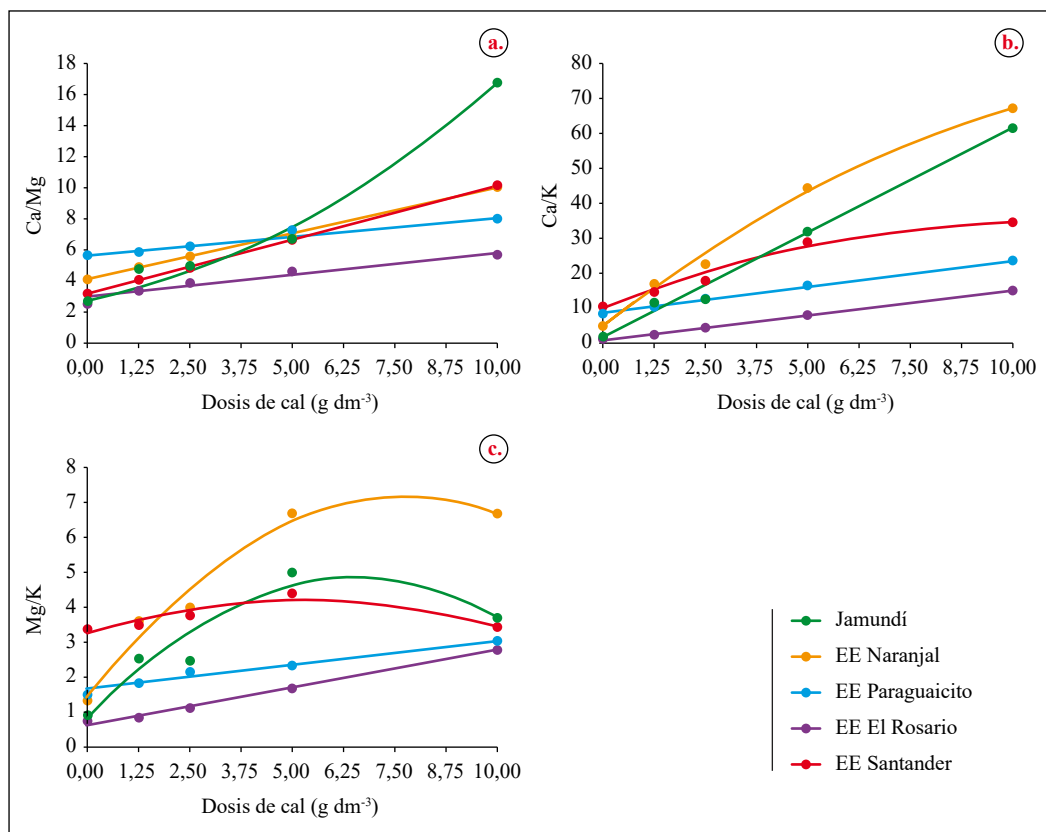
han sido entregados por Pavan y Bingham (1982), Pavan et al. (1982), Rodrigues et al. (2001) y Rodrigues et al. (2006), para el crecimiento inicial de café. Con respecto al suelo de Paraguaicito, el efecto de los tratamientos no guarda una relación estrecha con los componentes de la acidez o las bases intercambiables (Tabla 1), ya que en general sus niveles se encontraban dentro de los rangos que se consideran óptimos, según lo definido por Sadeghian (2013). Una posible causa estaría asociada con el aumento considerable del nitrógeno nítrico generado

por el incremento del pH, cuya magnitud fue mayor que las demás localidades (Figura 3).

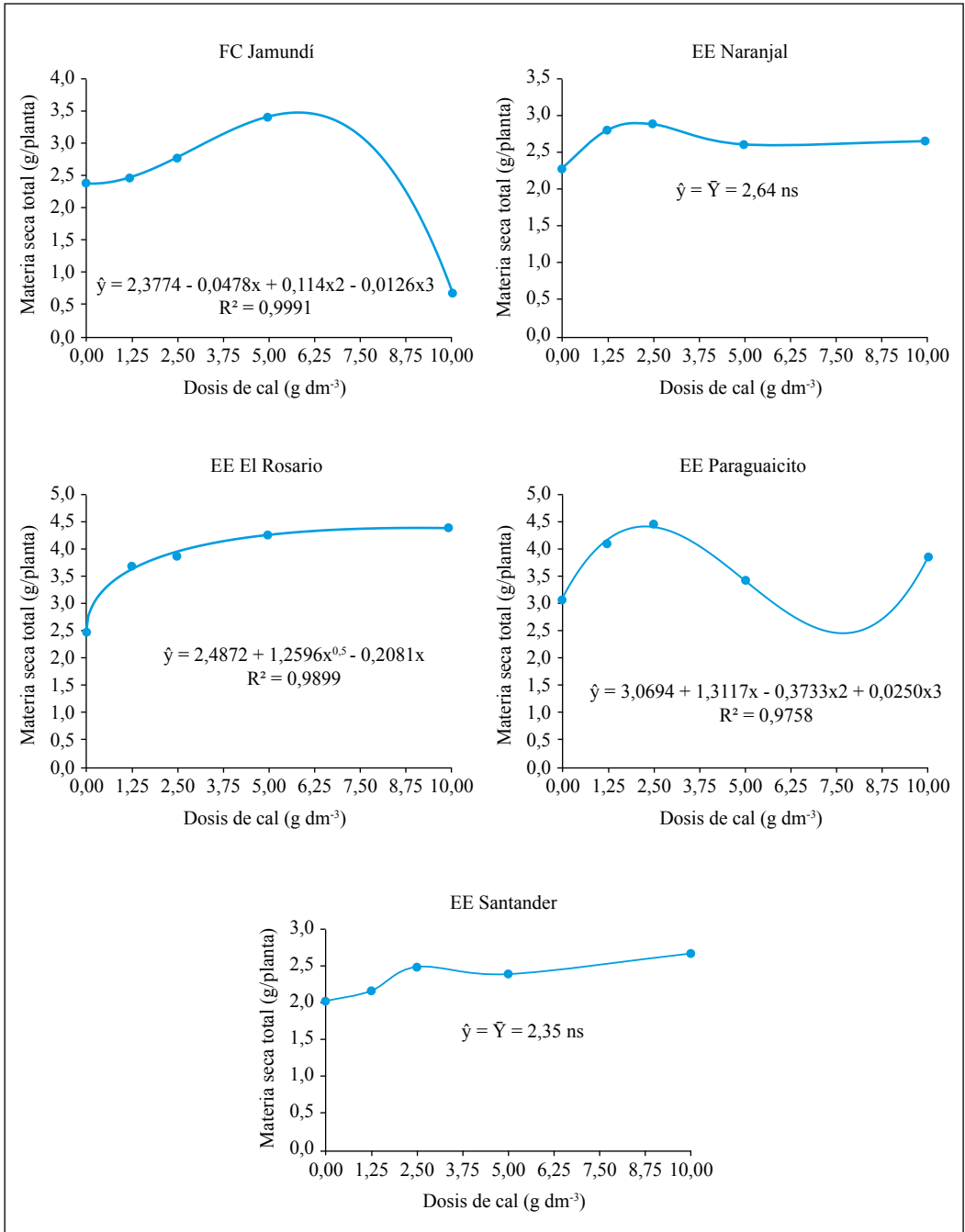
Aunque el encalamiento no tuvo efectos estadísticamente significativos en el crecimiento de las plantas desarrolladas en los suelos de Naranjal y Santander, se observaron ligeros incrementos al aplicar dosis bajas de cal (1,25 y 2,5 g dm<sup>-3</sup>). Para Naranjal la respuesta observada podría estar relacionada con los contenidos bajos de las bases intercambiables (Tabla 1). De acuerdo con Álvarez y Ribeiro (1999) y Sadeghian (2008), los requerimientos en la

cantidad de la cal, además de la acidez del suelo también dependen de los contenidos de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , sugerencia enfocada a una mayor sustentabilidad de los tenores de estos dos elementos en los suelos. En cuanto al suelo de la EE San Antonio, la tendencia registrada estaría relacionada con la posible neutralización de los altos contenidos de hierro y parcialmente manganeso (Figura 4). Se hubiera esperado disminución en el crecimiento de las plantas al aplicar la dosis más elevada ( $10,0 \text{ g dm}^{-3}$ ), particularmente en aquellos suelos donde el pH alcanzó valores superiores a 6,0 (Jamundí, Santander y Naranjal); sin embargo, sólo se observó este comportamiento para Jamundí.

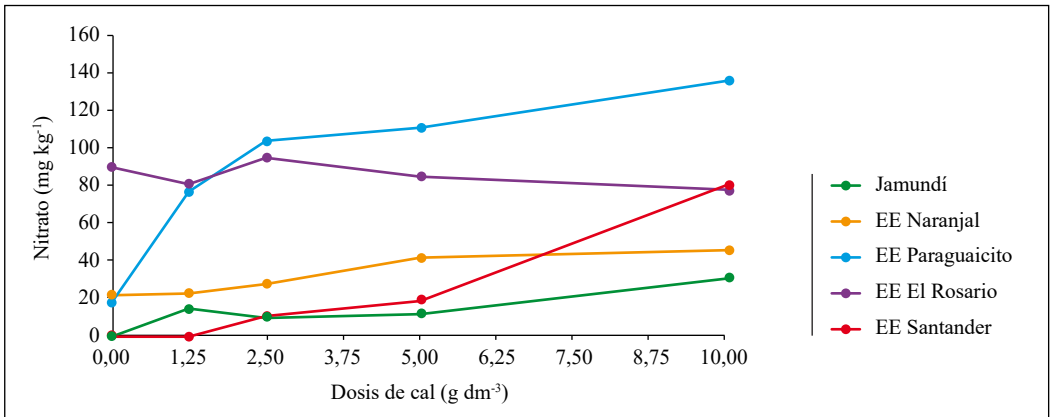
Los valores máximos de la biomasa seca total (Rendimiento Relativo-RR=100%), estimados para Jamundí, Paraguaicito y El Rosario fueron de 3,48, 4,42 y 4,39 g/planta, respectivamente. Con base en esta información se calcularon los niveles críticos (RR<95%) y los rangos óptimos (RR entre 95% y 100%) de las propiedades del suelo relacionadas con la acidez y el encalamiento (Tabla 2). Los rangos óptimos estuvieron entre los siguientes valores: pH 4,9 y 5,7, Ca 5,1 y 11,2  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ , Mg 0,9 y 2,1  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ , saturación de bases 21% y 45%, relación Ca:Mg 4,4:1 y 7,4:1, relación Ca:K 7:1 y 37:1 y relación Mg:K 1,4:1 y 4,8:1. Los niveles críticos de



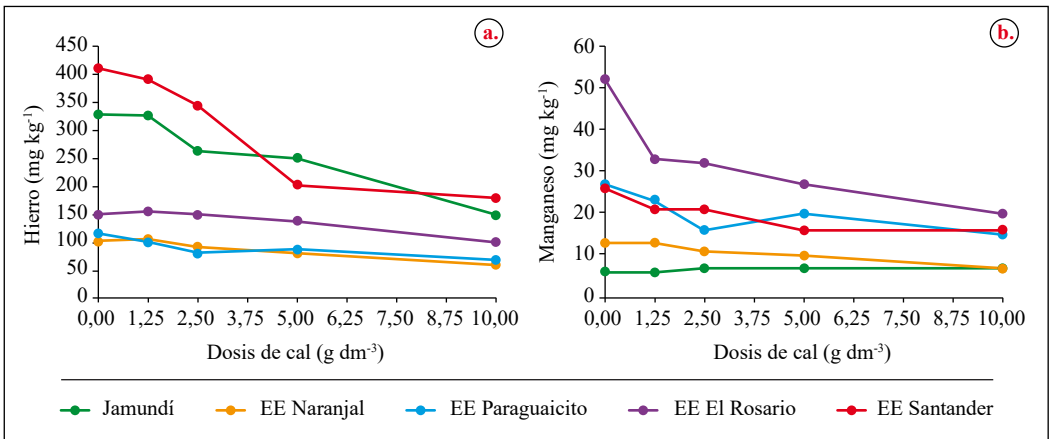
**Figura 1.** Cambios en las relaciones Ca/Mg (a), Ca/K (b) y Mg/K (c) intercambiables en respuesta a las dosis del material encalante empleado.



**Figura 2.** Materia seca total de las plantas de café en respuesta a las dosis de cal, aplicadas en cinco suelos de la zona cafetera.



**Figura 3.** Variaciones en los contenidos de nitrato en respuesta a las dosis de cal.



**Figura 4.** Variaciones en los contenidos de hierro (a) y manganeso (b) del suelo en respuesta a las dosis de cal.

$Al^{3+}$  y saturación de  $Al^{3+}$  fueron menores de  $1,1 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$  y  $12\%$ , respectivamente.

Con respecto al pH y  $Al^{3+}$ , los hallazgos de este estudio confirman los rangos sugeridos por Sadeghian (2008; 2013) para condiciones de Colombia y, en cuanto al  $Ca^{+2}$  y  $Mg^{+2}$ , sus niveles son parcialmente mayores a los reportados como óptimos (mayor de  $3,0$  y  $0,9 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ , respectivamente), ello como consecuencia de la baja solubilidad de la enmienda aplicada. Los rangos para  $Al^{3+}$

intercambiable y saturación de  $Al^{3+}$  coinciden de alguna manera con los niveles críticos hallados por Pavan et al. (1982) para el crecimiento de las raíces de café ( $0,3$  a  $1,3 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$  y  $3\%$  a  $25\%$ , respectivamente). Los valores del porcentaje de saturación de bases (%SB) son menores a los indicados por otros investigadores para el cultivo de café, es decir,  $60\%$  a  $70\%$  (Álvarez y Ribeiro, 1999; Corrêa et al., 2007; Rajj et al., 1983), resultado que puede atribuirse a la elevada CIC de los suelos en este estudio, relacionado con su riqueza en los contenidos

de la MO. De acuerdo con Guarçoni (2017) el valor sugerido del %SB para café puede variar según la CIC, determinada en el laboratorio a pH 7,0; al respecto, este autor propone los siguientes porcentajes: 90% para CIC baja (menor de 4,30  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ ), 70% para CIC media (entre 4,30 y 8,60  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ ) y 60% para CIC alta (mayor de 15,0  $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ ). Los anteriores valores siguen siendo altos para los resultados obtenidos en este estudio, en especial para el suelo de la EE El Rosario con una CIC=33  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ , indicando de esta manera que el %SB puede no ser un buen indicador para los suelos de Colombia con altos niveles de MO.

En cuanto a las relaciones entre las bases intercambiables, Bear y Toth (1948) sugieren los siguientes valores para Ca-Mg, Ca-K y Mg-K: 6,5:1, 13,0:1 y 2,0:1, respectivamente. Para Malavolta (2006) una relación de Ca:Mg hasta 4,5:1, favorece la producción de café,

no así para relaciones mayores a 5:1; a su vez, García (1981), verificó que las relaciones 2,52:1 y 3,08:1 fueron las más favorables para el desarrollo de las plantas café en dos suelos diferentes. Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que estas relaciones varían ampliamente según el tipo de suelo y, por lo tanto, no deben considerarse con criterios fijos.

Los resultados del presente estudio permiten concluir que:

- La corrección de la acidez del suelo contribuye al crecimiento de café durante la etapa inicial del cultivo, principalmente cuando el pH del suelo es menor de 5,0 y el aluminio intercambiable ( $\text{Al}^{3+}$ ) mayor de 1,0  $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ .
- El mayor crecimiento de las plantas se logra con valores de pH entre 4,9 y 5,7.

**Tabla 2.** Dosis de cal y propiedades del suelo, estimados para tres suelos evaluados y rendimientos relativos (RR) de 95 y 100%.

Dosis requerida y propiedades del suelo	FC Jamundí		EE Paraguaicito		EE El Rosario	
	RR=95%	RR=100%	RR=95%	RR=100%	RR=95%	RR=100%
Dosis de cal ( $\text{g dm}^{-3}$ )	4,41	5,81	1,30	2,28	4,15	9,15
pH	5,44	5,72	5,27	5,38	4,91	5,50
Al ( $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ )	0,15	0,06	0,22	0,15	1,10	0,28
Ca ( $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ )	6,24	8,07	5,10	6,08	5,48	11,21
Mg ( $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ )	1,01	1,09	0,90	1,03	1,15	2,06
Saturación de Al (%)	1,81	0,53	3,06	1,47	11,84	1,43
Saturación de bases (%)	33,97	43,09	38,65	45,32	20,59	39,40
Relación Ca:Mg	6,20:1	7,40:1	5,66:1	4,37:1	4,75:1	5,43:1
Relación Ca:K	28,35:1	36,77:1	10,93:1	12,39:1	7,07:1	14,20:1
Relación Mg:K	4,41:1	4,79:1	1,83:1	2,03:1	1,42:1	2,60:1

- Para el crecimiento inicial de café, los rangos óptimos de calcio, magnesio, saturación de  $Al^{3+}$ , saturación de bases y las relaciones entre las bases intercambiables, pueden presentar diferencias, tratándose de un suelo y otro.

## LITERATURA CITADA

- Álvarez, V., & Ribeiro, A. (1999). Calagem. En A. Ribeiro, P. Tacitó, & V. Álvarez (Eds.). *Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5a. aproximação* (pp. 43-60). Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais.
- Bear, F.E., & Toth, S.J. (1948). Influence of Calcium on availability of other soil cations. *Soil Science*, 65(1), 69-74. [https://journals.lww.com/soilscicitation/1948/01000/influence\\_of\\_calcium\\_on\\_availability\\_of\\_other\\_soil.7.aspx](https://journals.lww.com/soilscicitation/1948/01000/influence_of_calcium_on_availability_of_other_soil.7.aspx)
- Carrillo, I. F. (1985). *Manual de laboratorio de suelos*. Cenicafé.
- Chaves, J., Pavan, M.A., & Igue, K. (1984). Respostas do cafeeiro à calagem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 19(5), 573-582. <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/15714/9728>
- Corrêa, J.B., Pereira-Reis, T.H., Pozza, A., Gontijo, P.T., & Guedes, J. (2007). Índice de saturação por bases na nutrição e na produtividade de cafeeiros Catuaí vermelho (*Coffea arabica* L.). *Coffee Science*, 2(2), 159-167. <https://pdfs.semanticscholar.org/552a/13ccca2a5a05a36e5f83a9ff4f2ed1ff1a10.pdf>
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2013). *Manual del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura* (Vol. 3). Cenicafé.
- García, A. (1981). Calagem para o cafeeiro. En E. Malavolta, T. Yamada y J. Guidolin (Eds.), *Nutrição e adubação do cafeeiro* (pp. 103-115). Instituto da Potassa & Fosfato e Instituto Internacional da Potassa.
- Guarçoni, A. (2017). Saturação por bases para o cafeeiro baseada no pH do solo e no suprimento de Ca e Mg. *Coffee Science*, 12(3), 327-336. <http://hdl.handle.net/123456789/9123>
- Havlin, J.L., Tisdale, S.L., Nelson, W.L., & Beaton, J.D. (2014). *Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management* (8 ed.). New Jersey: Pearson.
- Kamprath, E. J. (1970). Exchangeable aluminum as a criterion for liming leached mineral soils. *Soil Science Society of America Journal*, 34(2), 252-254. <https://doi.org/10.2136/sssaj1970.03615995003400020022x>
- Malavolta, E. (2006). *Manual de nutrição mineral de plantas*. Agronômica Ceres.
- Pavan, M.A., & Bingham, F.T. (1982). Toxicity of aluminum to coffee seedlings grown in nutrient solution. *Soil Science Society of America Journal*, 46(5), 993-997. <https://doi.org/10.2136/sssaj1982.03615995004600050021x>
- Pavan, M.A., Bingham, F.T., & Pratt, P.F. (1982). Toxicity of aluminum to coffee in Ultisols and Oxisols amended with  $CaCO_3$ ,  $MgCO_3$  and  $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ . *Soil Science Society of America Journal*, 46(6), 1201-1207. <https://doi.org/10.2136/sssaj1982.03615995004600060017x>
- Raj, B. (2011). *Fertilidade do solo e manejo de nutrientes*. International Plant Nutrition Institute.
- Raj, B., Pereira, A., Cantarella, H., & Machado, N., (1983). Alumínio trocável e saturação em bases como critérios para recomendação de calagem. *Bragantia*, 42(1), 149-156. <http://www.scielo.br/pdf/brag/v42n1/13.pdf>
- Rodrigues, L.A., Martinez, H.E.P., Neves, J.C., Novais, R.F., & Mendonça, S.M (2001). Growth response of coffee tree shoots and roots to subsurface liming. *Plant and Soil*, 234(2), 207-214. <https://doi.org/10.1023/A:1017999318532>
- Rodrigues, L.A., Prieto, H.E., Lima, J.C., Ferreira, R., & Mendonça, S. M. (2006). Respostas nutricionais de cafeeiros Catuaí e Icatu a doses de calcário em subsuperfície. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 30(6), 985-995. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832006000600008>
- Sadeghian, S. (2008). Fertilidad del suelo y nutrición del café en Colombia: guía práctica. *Boletín Técnico Cenicafé*, 32, 1-43. <http://hdl.handle.net/10778/587>
- Sadeghian, S. (2013). Nutrición de cafetales. En Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (Ed.), *Manual del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura* (Vol. 2, pp. 85-116). Cenicafé.
- Shoemaker, H.E., McLean, E.O., & Pratt, P.F. (1961). Buffer methods for determination of lime requirement of soils with appreciable amount of exchangeable aluminum. *Soil Science Society of America Journal*, 25(4), 274-277. <https://doi.org/10.2136/sssaj1961.03615995002500040014x>

Suarez, F., & Rodríguez, A. (1956). Aplicación de la cal en cafetos jóvenes. *Revista Cafetera de Colombia*, 12(129), 4294-4301. <http://hdl.handle.net/10778/1108>

Toro, R. (1994). *Efecto de dosis crecientes de cal dolomítica en plántulas de café /Coffea arabica/ var. Colombia en*

*invernadero* [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional de Colombia.

Valencia, G., & Bravo, E. (1981). Influencia del enclamiento en la producción de cafetales establecidos. *Revista Cenicafé*, 32(1), 3-14. <http://hdl.handle.net/10778/1109>

# ESTUDIO DE LOS FACTORES LIMITANTES PARA LA OBTENCIÓN DE PLANTAS HAPLOIDES DE *Coffea arabica*

Ligia Belén Suescún Peñaranda\*, [Juan Carlos Herrera Pinilla](#)  \*\*, [José Ricardo Acuña Zornosa](#)  \*\*\*

Suescún, L. B., Herrera, J. C., & Acuña-Zornosa, J. R. (2020). Estudio de los factores limitantes para la obtención de plantas haploides de *Coffea arabica*. *Revista Cenicafé*, 71(1), 32-47. <https://doi.org/10.38141/10778/1118>

El desarrollo de un método eficiente para obtener plantas haploides de café requiere del estudio de los factores más limitantes. En este trabajo se evaluó el desarrollo de los gametos masculinos en relación con el estado fenológico de la flor de *C. arabica*, se evaluaron tratamientos de desinfección de las flores, tratamientos para el aislamiento y purificación de las microsporas, se estudió el efecto térmico sobre la inducción de la androgénesis y, por último, se evaluaron tratamientos con agentes antimitóticos para la duplicación cromosómica de tejidos haploides. Para inducir el proceso de androgénesis, se determinó que los botones florales entre 1,0 y 1,7 cm de longitud contenían el mayor porcentaje de células gaméticas en los estados uninucleado tardío y binucleado temprano, cruciales para el cambio ontogénico. Se determinó que el menor porcentaje de contaminación microbiana y oxidación biológica se logró con el uso de hipoclorito de calcio combinado con antioxidantes. El aislamiento y purificación de las microsporas se obtuvo mediante maceración mecánica de las anteras y filtración de las células gaméticas en mallas de 40 y 70 micras junto con el empleo de Percoll en gradientes superiores al 50%. La mayor inducción androgénica de las microsporas se consiguió incubando los botones florales desprendidos de la rama a 4°C, observándose divisiones celulares y formación de colonias multicelulares. La aplicación de Colchicina (1%) a meristemos de plantas haploides de *C. arabica* permitió la obtención de ramas con hojas que duplicaron su material cromosómico y cambiaron su morfología.

**Palabras clave:** Androgénesis, cultivo microsporas, haploides, *Coffea arabica*.

## STUDY OF THE LIMITING FACTORS FOR OBTAINING HAPLOID PLANTS FROM *Coffea arabica*

The development of an efficient method to obtain coffee haploid plants requires the study of the most limiting factors. This work of research evaluated the development of male gametes in relation to the phenological state of the *C. arabica* flower, flower disinfection treatments, treatments for isolation and purification of microspores. The thermal effect on the induction of androgenesis and the treatments with antimitotic agents for chromosomal duplication of haploid tissues were also evaluated. To induce the androgenesis process, flower buds between 1 and 1.7 cm in length were determined to contain the highest percentage of gametic cells in the late uninucleate and early binucleate states, crucial for ontogenetic change. It was established that the lowest percentage of microbial contamination and biological oxidation was achieved with the use of calcium hypochlorite combined with antioxidants. The isolation and purification of the microspores was obtained by mechanical maceration of the anthers and filtration of the gametic cells in 40 and 70 micron-meshes together with the use of Percoll in gradients higher than 50%. The greatest androgenic induction of microspores was achieved by incubating the flower buds detached from the branch at 4°C, observing cell divisions and multicellular colonies formation. The application of Colchicine (1%) to meristems of haploid plants of *C. arabica* allowed to obtain branches with leaves that duplicated their chromosomal material and changed their morphology.

**Keywords:** Androgenesis, microspore culture, haploids, *Coffea arabica*

\* Ingeniera de Producción Biotecnología, M.Sc. Biología Aplicada.

\*\* Biólogo, M.Sc. Mejoramiento Genético de Plantas, Ph.D. Genómica y Mejoramiento Genético de Plantas. Nestlé, Francia. <https://orcid.org/0000-0002-4855-6732>.

\*\*\* Investigador Científico III. Disciplina de Fisiología Vegetal, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-6935-2264>.





La androgénesis es un proceso natural que conlleva la formación y desarrollo de individuos haploides a partir de células gaméticas, el cual ocurre a frecuencias muy bajas. Los organismos haploides se caracterizan por tener la mitad del número de cromosomas de su especie, lo que les confiere características fenotípicas singulares, que los hacen muy interesantes para el desarrollo de investigaciones genéticas. En el mejoramiento genético vegetal su principal utilidad es la obtención rápida de plantas doble-haploides, a través de la duplicación de su contenido genético para obtener líneas completamente homocigóticas (Kasha, 2005). Existen diferentes métodos para la obtención de haploides en el laboratorio, los cuales se denominan “haplométodos”. Dentro de los más conocidos están: el cultivo *in vitro* de anteras y el cultivo de microsporas. En estos, las células gaméticas masculinas o microsporas son inducidas a cambiar su curso ontogénico normal, que las debería conducir a formar el grano de polen, por una vía que se denomina “androgénesis”, y que conduce al desarrollo de un tejido esporofítico haploide. Este proceso es dependiente de muchos factores tales como el genotipo, el estado fisiológico del material parental, el estado de desarrollo del polen, la composición del medio de cultivo y el tipo de estrés inductivo.

Aunque las bases biológicas que gobiernan la androgénesis no han sido totalmente entendidas, existen trabajos concluyentes sobre los efectos favorables del estrés inductivo en el cultivo de microsporas que provocan la formación de células embriogénicas. Estos tratamientos incluyen la utilización de choques térmicos con bajas o altas temperaturas, medios de cultivo con déficit de carbohidratos o la aplicación de sustancias inhibitorias de la división celular (Kasha, 2005; Zoriniant,

Tashpulatov, Heberle-Bors y Touraev, 2005; Carpeta et al., 2006). Una vez regenerado el material haploide es fundamental lograr la producción de plantas doble-haploides homocigotas que podrían utilizarse como padres en cruzamientos intra- o inter-específicos, así como, en la producción de líneas puras con potencial comercial. El principal mecanismo de duplicación cromosómica del tejido haploide es la exposición a agentes antimitóticos (por ejemplo, colchicina, trifluralina). El éxito de la duplicación cromosómica requiere de un balance exacto entre concentración y tiempo de exposición al antimitótico para cada genotipo particular. En el caso del café, existen algunos intentos para desarrollar haplométodos, aunque con pocos resultados exitosos (Sharp et al., 1973; Neuenschwander et al., 1993; Raghuramulu y Prakash, 1996). En el año 2002, en Cenicafé se logró por primera vez la inducción y regeneración de plantas haploides a partir de microsporas aisladas de la especie *Coffea arabica* (Herrera et al., 2002). Como resultado de este trabajo, se desarrolló un protocolo de base y se obtuvieron varios individuos haploides, los cuales se encuentran actualmente sembrados en el campo y han servido de base para diferentes estudios. A pesar de estos avances, el uso de los haploides continúa siendo limitado por la baja eficiencia de regeneración. Su implementación como una herramienta para el mejoramiento del café requiere un trabajo de optimización del proceso, a fin de superar limitaciones relacionadas con el estado apropiado de los gametos masculinos en relación con el desarrollo de la flor del café, los protocolos de desinfección de las flores, el aislamiento y purificación de las microsporas, el tratamiento térmico que estimule la inducción androgénica en las microsporas y la duplicación cromosómica de los tejidos haploides.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Estado de los gametos masculinos y su relación con el desarrollo de la flor del café.

Se recolectaron botones florales de plantas de *C. arabica* (Híbridos F1 de Variedad Castillo® x Variedades S795, S288 y BA2 de *C. arabica*) entre 0,5 y 1,9 cm de longitud, los cuales se agruparon en siete categorías con intervalos de 0,2 cm entre cada una. Para cada categoría se diseccionaron las anteras, se midieron y se fijaron en solución de Carnoy. Se aislaron las células gaméticas y, mediante observación al microscopio óptico, se clasificaron de la siguiente forma: (i) células madre del polen; (ii) tétradas; (iii) microsporas uninucleadas tempranas; (iv) microsporas uninucleadas tardías; (v) microsporas binucleadas tempranas; (vi) microsporas uninucleadas tardías; (vii) granos de polen maduro. El estado óptimo para el cultivo de microsporas es cuando las células gaméticas se encuentran en estado uninucleado tardío o binucleado temprano (Herrera et al., 2002).

### Desinfección de los botones florales.

Se evaluaron cinco tratamientos para la desinfección de botones florales de *C. arabica*, empleados en otras especies vegetales para el cultivo *in vitro* de anteras (Tabla 1). Los botones fueron recolectados en el campo, en horas de la mañana y transportados al laboratorio en frascos de vidrio, con servilletas humedecidas. Luego, se aplicaron los tratamientos de desinfección y después de una semana de cultivo se evaluó el porcentaje de contaminación microbiana y de oxidación del tejido de las anteras por cada tratamiento.

**Aislamiento de microsporas.** Después de recolectar botones florales en el estado de desarrollo apropiado para la inducción androgénica, se desinfectaron y extrajeron las anteras. Para el aislamiento de las

microsporas se aplicaron tres tratamientos con cuatro repeticiones, 100 anteras por cada tratamiento y como variable de respuesta se registró el número de microsporas por mililitro (Tabla 2).

**Purificación de las microsporas.** Para la purificación de las microsporas se utilizaron tres gradientes de Percoll® (50%, 60% y 70% (v/v)), diluido en medio de cultivo “MA”, compuesto por las sales de Murashige & Skoog (0,5X), 64 mg L<sup>-1</sup> de manitol y 0,6 g L<sup>-1</sup> de cisteína. Las microsporas se transfirieron a un tubo de vidrio de 15 mL sobre 4 mL del tratamiento de Percoll®. La suspensión se centrifugó a 700 rpm, durante 6 min, a 10°C, las microsporas viables, que se distribuyeron en la interfase de la solución, se aspiraron lentamente con una micropipeta y se transfirieron a otro tubo estéril. Las microsporas se lavaron dos veces con 2 mL de medio MA, centrifugando a 700 rpm, durante 1 min para retirar el sobrenadante y se resuspendieron en 1 mL de medio “MC” compuesto por sales minerales B5 de Gamborg (1X), agua de coco (160 mL L<sup>-1</sup>), glutamina (250 mg L<sup>-1</sup>), glicina (2 mg L<sup>-1</sup>), cisteína (150 mg L<sup>-1</sup>), inositol (100 mg L<sup>-1</sup>), MES (600 mg L<sup>-1</sup>), PVP-10 (200 mg L<sup>-1</sup>), maltosa (200 mg L<sup>-1</sup>), ácido naftalén acético (0,3 mg L<sup>-1</sup>) y quinina (0,1 mg L<sup>-1</sup>), el pH de la solución se ajustó a 5,8. Finalmente, se registró el número de microsporas/mL.

### Evaluación del efecto del estrés térmico en microsporas de café.

Para la inducción de androgénesis se utilizaron tratamientos basados en las investigaciones de Zur et al., (2014) y Rodríguez et al., (2012), aplicando una temperatura de 4°C a flores de *C. arabica* desprendidas y no desprendidas de la rama. En el tratamiento con botones florales no desprendidos de la rama se utilizaron ramas de 40-50 cm de longitud que tenían flores con las características morfológicas óptimas para la androgénesis. Después de cortadas las ramas,

**Tabla 1.** Descripción de los tratamientos para la desinfección superficial de botones florales de *Coffea arabica*.

Tratamiento PI	Tratamiento PII	Tratamiento PIII	Tratamiento PIV	Tratamiento PIV'
Lavado en detergente no iónico	Lavado en jabón antimicrobial	Lavado en jabón antimicrobial	Lavado en jabón antimicrobial	Lavado en jabón antimicrobial
Inmersión en etanol 70%, 1 min.	Inmersión en Timsen® 20% (v/v), 10 min.	Inmersión en Derosal® 2% (v/v), 5 min.	Inmersión en Timsen® 20% (v/v), 10 min.	Inmersión en Timsen® 15% (v/v), 10 min.
Inmersión en hipoclorito de sodio 50% (v/v) + 2 gotas de Tween 20®, 10 min.	Inmersión en hipoclorito de calcio 5% (p/v) + 2 gotas de Tween 20®	Inmersión en Timsen® 15% (v/v), 5 min.	Inmersión en hipoclorito de calcio 5% (p/v)	Inmersión en Derosal® 2% (v/v)
Lavado en solución SL: manitol (64 g L <sup>-1</sup> ), cisteína (2 g L <sup>-1</sup> )	Lavado en solución SL: manitol (64 g L <sup>-1</sup> ), cisteína (2 g L <sup>-1</sup> )	Lavado en hipoclorito de calcio 5% + Tween 20®	Lavado en solución A: manitol (64 g L <sup>-1</sup> ), metabisulfito de sodio (2 g L <sup>-1</sup> ), PPM™ (5 mL).	Desinfección en hipoclorito de calcio 5% + 2 gotas de Tween 20®
Inmersión en Derosal® 500 SC 2% (v/v) + cisteína	Inmersión en solución antimicrobial PPM™ 0,5%	Lavado en solución SL + solución antimicrobial PTC™ 0,5%	Inmersión en solución antimicrobial PPM™ 0,5%, 1-2 min.	Solución A: manitol (64 g L <sup>-1</sup> ), metabisulfito de sodio (2 g L <sup>-1</sup> ), PPM (5 mL) + solución antimicrobial PTC™ 0,5%
Siembra medio de MP: sales Murashige y Skoog (1X), cisteína 0,6 g L <sup>-1</sup> , sacarosa 30 g L <sup>-1</sup> , manitol 30 g L <sup>-1</sup> , Phytigel 2,5 g L <sup>-1</sup> , pH 5,8.	Siembra medio de MP: sales Murashige y Skoog (1X), metabisulfito de sodio 2 mg L <sup>-1</sup> , sacarosa 30 g L <sup>-1</sup> , manitol 30 g L <sup>-1</sup> , Phytigel 2,5 g L <sup>-1</sup> , pH 5,8	Siembra medio de MP: sales Murashige y Skoog (1X), metabisulfito de sodio 2 mg L <sup>-1</sup> , sacarosa 30 g L <sup>-1</sup> , manitol 30 g L <sup>-1</sup> , Phytigel 2,5 g L <sup>-1</sup> , pH 5,8.	Siembra medio de MP: sales Murashige y Skoog (1X), metabisulfito de sodio 2 mg L <sup>-1</sup> , sacarosa 30 g L <sup>-1</sup> , manitol 30 g L <sup>-1</sup> , Phytigel 2,5 g L <sup>-1</sup> , pH 5,8.	Siembra medio de MP: sales Murashige y Skoog (1X), metabisulfito de sodio 2 mg L <sup>-1</sup> , sacarosa 30 g L <sup>-1</sup> , manitol 30 g L <sup>-1</sup> , Phytigel 2,5 g L <sup>-1</sup> , pH 5,8.

**Tabla 2.** Descripción de los tratamientos para el aislamiento de microsporas a partir de anteras seleccionadas para el proceso de androgénesis en *Coffea arabica*.

Tratamiento AI	Tratamiento AII	Tratamiento AIII
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colocar las anteras desinfectadas sobre una malla de 400 micras.</li> <li>• Adicionar 1 mL de solución SL y realizar cortes transversales de las anteras para liberar las microsporas.               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavar con 1 mL de solución SL.</li> <li>• Macerar las anteras sobre la malla y adicionar 5 mL de medio MA, compuesto por sales minerales de Murashige &amp; Skoog (0,5X), manitol 64 g L<sup>-1</sup> y cisteína 0,6 g L<sup>-1</sup>.</li> </ul> </li> <li>• Filtrar el macerado por una malla de 70 y luego de 40 micras, lavando con 2 mL de medio MA.</li> <li>• Recolectar el filtrado en tubos de 10 mL y centrifugar a 700 rpm, 2 min, 10°C y descartar el sobrenadante.</li> <li>• Resuspender el precipitado en 2 mL de medio MA y centrifugar a 700 rpm, 2 min, 10 °C.</li> <li>• Resuspender las microsporas en 5 mL de medio MC, compuesto por sales minerales B5 de Gamborg (1X), agua de coco (160 mL L<sup>-1</sup>), glutamina (250 mg L<sup>-1</sup>), glicina (2 mg L<sup>-1</sup>), cisteína (150 mg L<sup>-1</sup>), inositol (100 mg L<sup>-1</sup>), MES (600 mg L<sup>-1</sup>), PVP-10 (200 mg/L), maltosa (200 mg L<sup>-1</sup>), ácido naftalén acético (0,3 mgL<sup>-1</sup>) y quinetina (0,1 mg L<sup>-1</sup>), pH 5,8.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colocar las anteras desinfectadas en recipiente de vidrio y hacer cortes transversales para liberar microsporas.</li> <li>• Adicionar 5 mL de medio MA (1mL/5 anteras).               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cubrir con papel aluminio el frasco y agitar (110 rpm), 10°C, durante 24-48 horas, en oscuridad.</li> </ul> </li> <li>• Filtrar la solución por una malla de 40 micras y recolectar el filtrado en tubos de 10 mL, centrifugar 700 rpm 2 min, 10°C, descartar el sobrenadante.</li> <li>• Resuspender las microsporas en 2 mL de medio MA y centrifugar a 700 rpm, 2 min, 10°C, descartar el sobrenadante y repetir este proceso una vez más.</li> <li>• Resuspender en 5 mL de medio MC.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sembrar anteras desinfectadas en medio MA solidificado con Agarosa 1%, durante una semana.</li> <li>• Recolectar las anteras y macerarlas para liberar las microsporas, adicionar 5 mL de medio MA.</li> <li>• Filtrar las anteras por una malla de 40 micras.</li> <li>• Centrifugar a 700 rpm durante 2 min y descartar el sobrenadante.</li> <li>• Recolectar el filtrado en tubos de 10 mL y centrifugar 700 rpm, 2 min, 10°C, descartar el sobrenadante.</li> <li>• Resuspender las microsporas en 2 mL de medio MA, centrifugar a 700 rpm, 2 min, 0°C, descartar el sobrenadante y repetir este proceso una vez más.</li> <li>• Resuspender las microsporas en 5 mL de medio MC.</li> </ul>

en la herida donde se realizó el corte se colocó una mota de algodón humedecida con agua destilada. Las ramas fueron colocadas en bolsas de papel aluminio a 4°C, en condiciones de oscuridad, durante 7 días. En el tratamiento con los botones florales con desprendimiento de la rama, estos fueron recolectados en frascos de vidrio, e incubados a 4°C en condiciones

de oscuridad, durante cinco días. Se utilizó un tratamiento control donde los botones florales, desprendidos y en la rama, fueron conservados a temperatura ambiente. Después de aplicar los tratamientos, las microsporas se aislaron, purificaron y diluyeron a una densidad de 1 x10<sup>5</sup> microsporas/mL. Después, estas se incubaron en cajas de Petri (5,4 x 1,5 cm)

en oscuridad, a 4°C durante tres días. Luego, las microsporas fueron transferidas a tubos de 15 mL, se lavaron dos veces mediante centrifugación (700 rpm, 1 min) con 2 mL de medio “MA” y las microsporas decantadas se colocaron en 2 mL de medio de cultivo MC. Sobre un portaobjetos se depositó una alícuota y se le adicionaron 8 µL de diacetato de fluoresceína (5 mg mL<sup>-1</sup>), para verificar el porcentaje de células vivas mediante observación con microscopio de fluorescencia. Finalmente, las microsporas se incubaron a 27°C en la oscuridad, en placas multipozos con medio “MC” solidificado con agarosa (1%) y después de tres semanas se registró el porcentaje de microsporas en estado de división, con la ayuda de un microscopio motorizado Nikon 90i (objetivo 40X), por cada placa se registraron cinco campos.

**Duplicación cromosómica *in vivo* de plantas haploides de *C. arabica*.** La metodología propuesta por Berthou (1975) y Noiro (1978) fue seleccionada para la duplicación de cromosomas y consistió en inducir el crecimiento de nuevos brotes caulinares mediante el tratamiento *in vivo* de meristemas apicales con agentes antimitóticos. Se utilizaron plantas haploides de *C. arabica* var. Colombia de 15 años de edad, previamente obtenidas por Herrera et al. (2002), y que estaban sembradas en el campo en la Estación Experimental de Naranjal, Chinchiná (Caldas). Se evaluó el efecto antimitótico de la Colchicina 1% (TRA1) y la Trifluralina 0,1% (TRA2) sobre yemas apicales de la planta. En cada yema se realizó un corte a nivel del entrenudo subterminal o terminal, dejando el meristemo al descubierto y teniendo cuidado de no generar algún daño a la estipula. Luego, se colocó una mota de algodón sobre el área expuesta que estaba impregnada con una solución del antimitótico disuelto en agua de coco 49% (v/v) y glicerol 49% (v/v). El tejido se cubrió con una película plastificada “vinipel” por 72 horas. Una vez

aparecieron nuevos brotes caulinares con hojas (chupones), se evaluaron con el fin de identificar cambios morfo-anatómicos y cromosómicos en las hojas de estos chupones en comparación con las hojas del resto de la planta haploide. Se realizó una clasificación cualitativa agrupando las ramas con hojas de mayor tamaño, que es una característica de duplicación de cromosomas (RHD= Ramas Hojas Duplicadas) y ramas con hojas iguales a las del resto de la planta haploide (RHSD= Ramas Hojas Sin Duplicar) (Herrera y Camayo, 2008). Para evaluar los cambios morfológicos y cromosómicos se tomaron cuatro hojas por estado (RHD y RHSD) y para cada uno de los tratamientos (TRA1 y TRA2). Con estas hojas se evaluó la relación longitud/ancho de la hoja (“RELAH”), la densidad estomática (DE), la longitud de las células guardas (LONGE) y el número de cromosomas. La densidad estomática se determinó con el número de estomas por milímetro cuadrado (estomas/mm<sup>2</sup>), para lo cual se analizaron cuatro láminas con epidermis del envés de las hojas (una para cada hoja). En cada lámina se observaron cuatro campos aleatorios bajo microscopio Nikon 90i, empleando el objetivo 40X, y en cada campo se contó el número de estomas y la longitud de las células guarda de los estomas para la variable LONGE. Para el conteo de cromosomas se recolectó tejido foliar joven en horas de la mañana (8:00 a 11:00 am) y se colocó en una solución de  $\alpha$ -hidroxiquinolina (0,05%), por tres horas, para sincronizar los estados de división celular, posteriormente las hojas se lavaron y se fijaron en solución Carnoy hasta la preparación de los extendidos cromosómicos. El tejido se lavó y tiñó con aceto-carmín, seguidamente se realizó el extendido de una porción del tejido sobre una lámina porta-objetos. Se analizaron tres placas por muestra y en cada placa se observaron cinco metafases y se registró el número de cromosomas. Para cada tratamiento (TRA1 y TRA2) se realizó el análisis de estadística

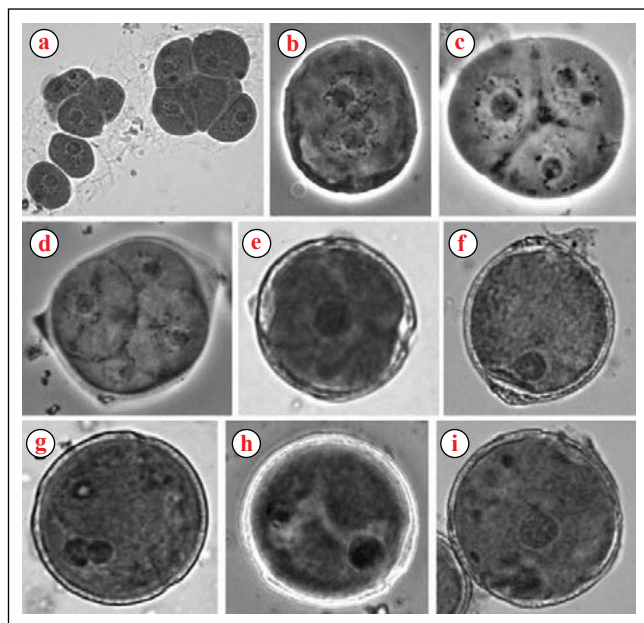
descriptiva, de los estados (RHD y RHSD) y de las variables RELAH, DE y LONGE, y análisis de varianza con prueba de comparación de grupos y las diferencias entre los grupos para cada una de las variables medidas se determinaron mediante la prueba de *t* al 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Relación del estado floral y el desarrollo del polen.** En el análisis citológico se observó un desarrollo normal del proceso de microsporogénesis en las anteras de *Coffea arabica*, evidenciando un desarrollo gametofítico propio de las angiospermas, las células madres inician su diferenciación hasta formar los cuatro núcleos haploides, donde ocurre la división citoplasmática, que conlleva a la formación de la tétrada (Figura 1 a-d). La pared callosa de esta última se rompe y se liberan las microsporas uninucleadas jóvenes o tempranas, las cuales forman una doble pared compuesta por intina y exina, el núcleo se encuentra en el centro de la célula

(Figura 1-e). A continuación, la vacuola se va agrandando, desplazando el núcleo a un costado de la microspora, lo cual diferencia el estado uninucleado tardío (Figura 1-f). En este momento ocurre una división mitótica dando paso al estado binucleado con dos núcleos, uno vegetativo y otro regenerativo, siendo este último un poco más pequeño. Inicialmente la microspora se observa con los dos núcleos juntos, a un costado de la célula (Figura 1-g), pero a medida que se van formando vacuolas y se va llenando el citoplasma de gránulos de almidón, los núcleos se van separando, ubicándose en los polos opuestos de la microspora (Figura 1-h). Finalmente, el núcleo vegetativo se observa grande y denso, ubicándose generalmente en el centro de la célula, en cuanto al núcleo regenerativo se hace más pequeño y difuso, ubicado a un costado de la célula, dando paso a la madurez del grano de polen (Figura 1-i).

Los botones florales se agruparon en siete categorías, con intervalos de 0,2 cm



**Figura 1.** Desarrollo del polen de los híbridos de *Coffea arabica*. Se detallan los estados más característicos, desde la diferenciación celular (célula madre de grano de polen) hasta la formación de grano de polen maduro. **a.** Células madres de polen; **b.** y **c.** Células en división meiótica, formación de los cuatro núcleos; **d.** Tétrada; **e.** Microspora uninucleada temprana o joven; **f.** Microspora uninucleada tardía; **g.** Microspora binucleada temprana; **h.** Microspora binucleada tardía; **i.** Polen maduro.

entre cada categoría (Tabla 3), iniciando con botones de 0,5 cm hasta botones de 1,9 cm de longitud (Figura 2). En las categorías 1, 2 y 3 predominaron las microsporas en estados de desarrollo inmaduros, donde se observaron células madre y algunas tétradas, producto de la división meiótica. El estado uninucleado temprano, se observó en casi todas las categorías, pero con mayor presencia en la categoría 3, mientras que los estados uninucleado tardío y binucleado temprano, cruciales para que se dé el cambio ontogénico en el cultivo *in vitro* de microsporas, se encontró

entre las categorías 4 y 7, con mayor frecuencia de uninucleado tardío en la categoría 5 y de binucleado temprano en la categoría 7. Los estados de binucleado tardío y grano de polen maduro se concentraron después de la categoría 6. Los botones florales entre 1,5 y 1,8 cm de longitud y de coloración verde crema son apropiados para la inducción del proceso de androgénesis.

**Desinfección de botones florales.** Con los tratamientos PII y PIII se obtuvieron porcentajes de contaminación microbiana

**Tabla 3.** Categorización de los botones florales de *C. arabica* de acuerdo su longitud y el tamaño de sus anteras.

Categoría	Rango de longitud del botón floral (cm)	Longitud promedio de las anteras (cm)
1	0,50–0,70	0,41
2	0,71–0,90	0,52
3	0,91–1,10	0,70
4	1,11–1,30	0,74
5	1,31–1,50	0,89
6	1,51–1,70	0,99
7	1,71–1,90	1,04



**Figura 2.** Desarrollo morfológico de los botones florales de *C. arabica*. Botones florales recolectados de plantas de *C. arabica* y agrupados en siete categorías de tamaño, de acuerdo la longitud del botón floral y de las anteras.

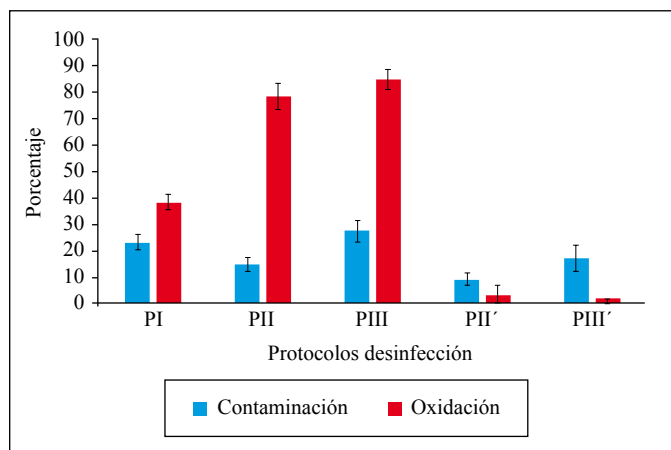
bajos (<30%), pero el tejido de las anteras se deterioró debido principalmente a procesos de oxidación biológica (>40%). En el caso particular del café, los tejidos de la planta son muy vulnerables a la oxidación biológica por efecto abrasivo de los agentes desinfectantes y los cortes que sufren. El hipoclorito de sodio, ampliamente usado como desinfectante en el cultivo *in vitro* de tejidos y órganos vegetales, produce daños irreversibles en algunos tejidos, razón por la cual se utiliza como alternativa el hipoclorito de calcio. De igual forma, el uso de compuestos antioxidantes como la cisteína y el meta bisulfito de sodio han sido muy efectivos para el control de la oxidación biológica de tejidos u órganos de *C. arabica in vitro*. Con las modificaciones hechas en los tratamientos PII' y PIII', donde se incluyó como desinfectante hipoclorito de calcio y el uso de meta bisulfito de sodio como antioxidante, se lograron los niveles de contaminación y de oxidación bajos, seleccionando el tratamiento PII' para la desinfección de botones florales (Tabla 1; Figura 3).

**Aislamiento de microsporas.** Con el tratamiento de aislamiento AI se obtuvo la mayor densidad de microsporas, pero este procedimiento dejó residuos celulares en la

suspensión de microsporas por lo que se procedió a evaluar tratamientos de purificación que permitieran obtener suspensiones con microsporas de tamaño uniforme y libre de residuos provenientes del tejido de la antera (Tabla 2, Figura 4).

**Purificación de las microsporas.** El Percoll® utilizado para la purificación de células, orgánulos y/o virus mediante centrifugación en gradientes de densidad, es adecuado debido a su baja viscosidad, baja osmolaridad y nula toxicidad para las células. La mayor pérdida de microsporas se produjo con gradientes de densidad del 50%, mientras que los gradientes de 60 y 70%, concentraron mayor densidad de microsporas (Tabla 4). Por tal razón se escogió el tratamiento con Percoll® al 70% para la purificación de las microsporas de *C. arabica*.

**Efecto del estrés térmico en el cultivo de microsporas de café.** Los parámetros que modulan la iniciación de la androgénesis a partir del cultivo de microsporas son el estrés y factores genéticos, los cuales favorecen significativamente la producción de plantas haploides. El aumento de la intensidad del estrés aumenta la frecuencia de inducción de



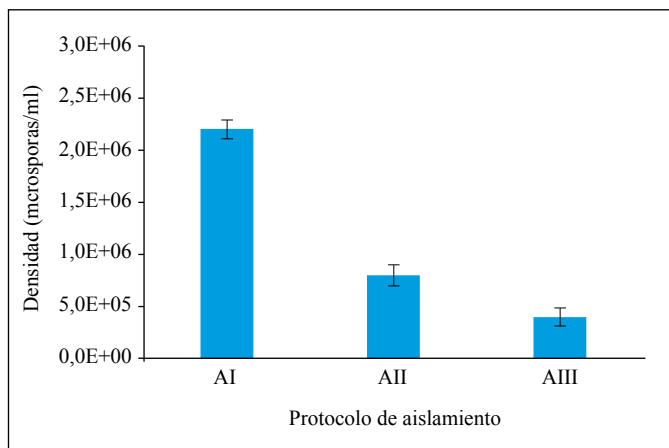
**Figura 3.** Evaluación de tratamientos para la desinfección superficial de botones florales de *C. arabica*. En el texto se describe detalladamente cada uno de los tratamientos aplicados a los botones florales. Los tratamientos PII' y PIII' son modificaciones de los tratamientos PII y PIII.



la androgénesis, pero también puede afectar negativamente la viabilidad de las células e inducir re-arreglos en genomas nucleares o de cloroplastos que conducen a una disminución de la capacidad de regeneración y formación de plantas albinas (Zur et al., 2014; Rodríguez et al., 2012). El tratamiento en frío mejora la respuesta androgénica de las microsporas y se ha utilizado de forma rutinaria en cultivos de muchos cereales, como el maíz (Gaillard et al., 1991), trigo (Gustafson et al., 1995), cebada (Davies y Morton, 1998) y arroz (Cho y Zapata, 1988). El choque térmico combinado con la limitación de nutrientes (Touraev et al., 1996) o con el frío (Reddy et al., 1985) también son eficaces para reprogramar la ruta gametofítica. En el tratamiento a 4°C donde se utilizaron botones florales de *C. arabica* sin desprendimiento de la rama el

porcentaje de microsporas viables a los 7 días de incubación, justo antes de realizar el aislamiento mecánico de las microsporas, fue 57,5%, y después de la purificación fue de 60,7%. En el tratamiento a 4°C con botones desprendidos de la rama el porcentaje de células viables a los cinco días de incubación, antes de realizar el aislamiento mecánico de las microsporas fue de 70,8%, y después de la purificación de 71,7%. No hubo diferencias en la viabilidad de las células por efecto del protocolo de aislamiento mecánico ni se observaron diferencias significativas debido al desprendimiento de los botones florales (Figura 5 y 6).

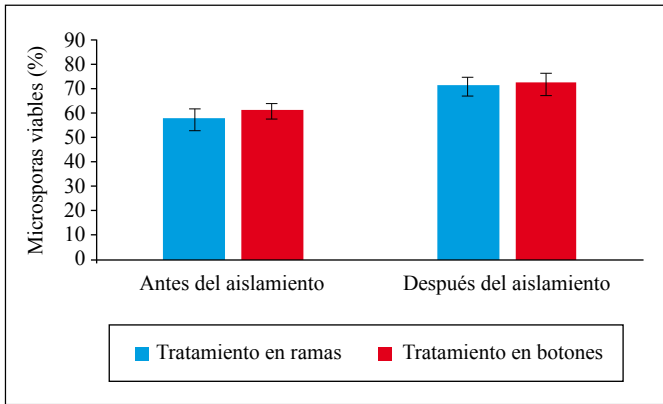
Después de una semana de cultivo se observaron células en división en los dos tratamientos con estrés térmico (Figura 7a y b) y



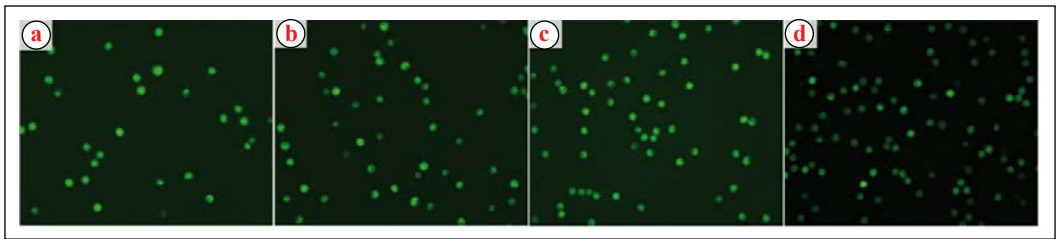
**Figura 4.** Evaluación de tratamientos para el aislamiento de microsporas de *C. arabica*. AI: aislamiento mecánico; AII: aislamiento por agitación; AIII: aislamiento con precultivo. Cada uno se evaluó en cuatro repeticiones y se determinó el promedio de la densidad de microsporas.

**Tabla 4.** Evaluación de los tratamientos para la purificación de microsporas de *C. arabica* en gradientes de Percoll®.

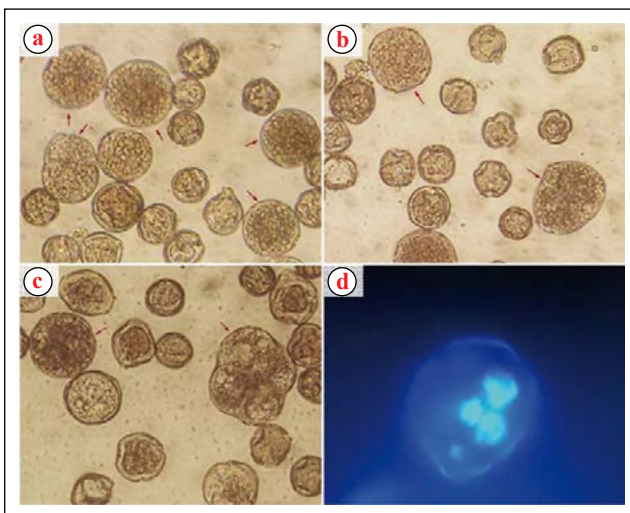
Tratamiento Percoll	Densidad 2 (microsporas/mL)	Densidad (microsporas/mL)	Pérdida (microsporas/mL)
50%	8,05 x 10 <sup>6</sup>	8,40 x 10 <sup>5</sup>	7,21 x 10 <sup>6</sup>
60%	9,55 x 10 <sup>5</sup>	4,90 x 10 <sup>5</sup>	4,65 x 10 <sup>5</sup>
70%	9,70 x 10 <sup>5</sup>	6,05 x 10 <sup>5</sup>	3,65 x 10 <sup>5</sup>



**Figura 5.** Evaluación de la viabilidad de microsporas de *C. arabica* obtenidas de botones florales desprendidos y no desprendidos de la rama y expuestos a 4°C en condiciones de oscuridad. Las barras son el porcentaje de microsporas fluorescentes antes y después de aplicar el tratamiento de aislamiento a las microsporas.



**Figura 6.** Viabilidad de microsporas mediante tinción con acetato de fluoresceína (10X). **a.** Microsporas de botones florales no desprendidos de la rama, siete días de incubación a 4°C en condiciones de oscuridad, antes de realizar el aislamiento; **b.** Microsporas de botones florales no desprendidos de la rama, siete días de incubación a 4°C en condiciones de oscuridad, después del aislamiento; **c.** Microsporas de botones florales desprendidos, cinco días de incubación a 4°C en condiciones de oscuridad, antes de realizar el aislamiento; **d.** Microsporas de botones florales desprendidos, cinco días de incubación a 4°C en condiciones de oscuridad, después del aislamiento.



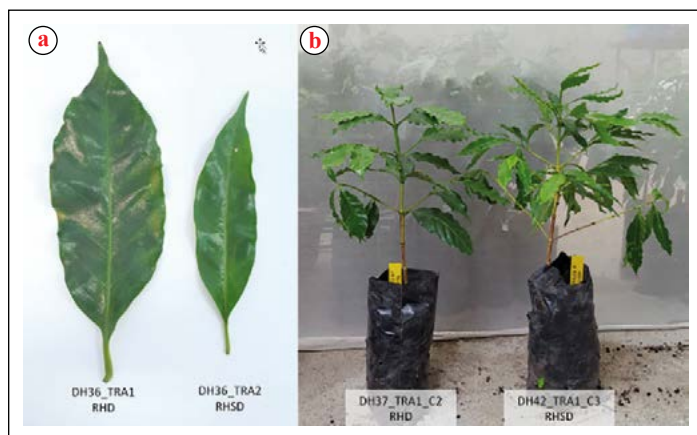
**Figura 7.** Androgénesis inducida por tratamiento a baja temperatura de microsporas de *C. arabica*. **a.** División celular de microsporas obtenidas de botones florales desprendidos; **b.** División celular de microsporas obtenidas de botones florales no desprendidos de la rama; **c.** Colonias multicelulares observadas bajo microscopio invertido después de tres semanas de cultivo; **d.** Colonia multicelular teñida con el fluorocromo DAPI.

al cabo de tres semanas se evidenciaron colonias multicelulares conformadas por cuatro a seis células (Figura 7c). En el tratamiento utilizando botones florales desprendidos de la rama se observó 4,7% de colonias celulares mientras que en el tratamiento con flores adheridas a las ramas el porcentaje de colonias fue de 1,4%. En cuanto al control, no se observaron células en división. La división celular fue confirmada mediante tinción con DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole), un fluorocromo específico de unión al ADN que permite observar bajo microscopía de fluorescencia los núcleos de las células (Figura 7d). Aunque se evidenció la formación de colonias multicelulares después de varias semanas de cultivo, estas no lograron sostener su crecimiento y no prosperaron en la formación de callos embriogénicos. Sin embargo, esta es la primera evidencia de formación de colonias celulares inducidas por estrés térmico en microsporas de *C. arabica*, lo que significaría que es un tratamiento promisorio para la optimización del proceso de androgénesis en café. En futuros experimentos es necesario evaluar por qué después de haber sido inducida la división celular se detuvo el crecimiento. Es posible que se requiera una composición hormonal específica del medio de cultivo, o determinada condición ambiental

para mantener activa la división celular de estas colonias hasta la formación de embriones somáticos que produzcan plantas haploides.

**Duplicación cromosómica “in vivo” en plantas haploides de *C. arabica*.** Después de aplicar los tratamientos antimitóticos a las yemas ortotrópicas de plantas haploides cultivadas en el campo, se regeneraron nuevos tallos (chupones) con sus respectivas hojas. Estos fueron cortados de la planta madre y los esquejes se enraizaron en bolsas con suelo hasta la formación de plantas con tres a cuatro entrenudos. En el tratamiento con Colchicina (TRA1) se observó un 10% de ramas con hojas duplicadas (RHD) y un 90% de ramas con hojas sin duplicar (RHSD), mientras que en el tratamiento con trifluralina (TRA2) solo se observaron ramas con hojas sin duplicar (Figura 8).

Las ramas de hojas duplicadas (RHD) tratadas con Colchicina (TRA1) tuvieron una menor relación longitud/ancho de la hoja (RELAH) 2,58 y densidad estomática (DE) 122,2 estomas/mm<sup>2</sup>; en comparación con las ramas de hojas sin duplicar (RHSD) que presentaron una RELAH de 3,54 y una DE de 242,4 estomas/mm<sup>2</sup>. Mientras

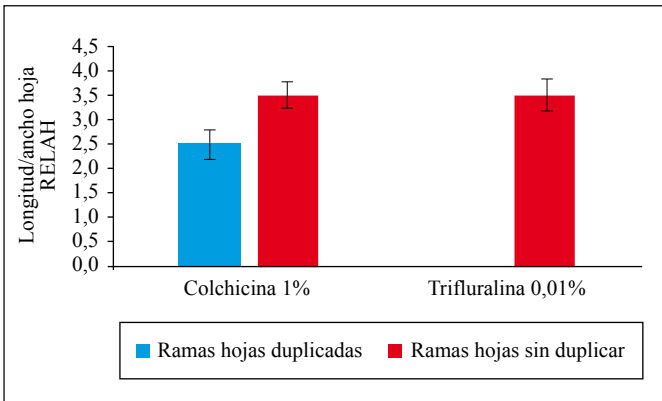


**Figura 8.** Características morfológicas de las ramas con hojas duplicadas (RHD) y las ramas con hojas sin duplicar (RHSD). **a.** Hojas tomadas de la planta DH36 tratada con Colchicina al 1% (TRA1) y Trifluralina al 0,01% (TRA2); **b.** Ramas enraizadas del tratamiento con Colchicina al 1% (TRA1), planta DH37 con hojas duplicadas (RHD) y planta DH42 con hojas sin duplicar (RHSD).

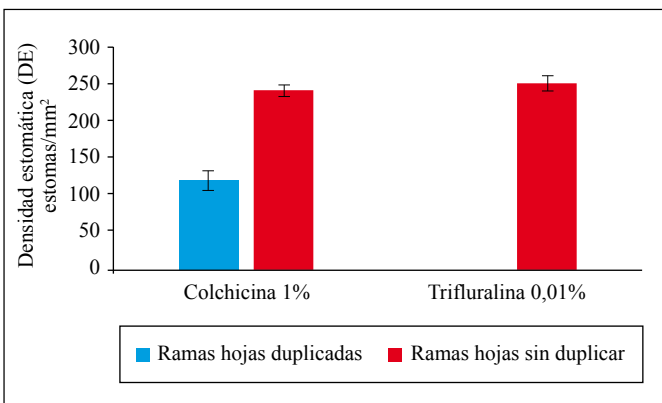
que la longitud de las células guarda fue mayor en las RHD (28,5  $\mu\text{m}$ ) con relación a las RHSD (20,2  $\mu\text{m}$ ), como se presenta en las Figuras 9 a las 12. Otra característica importante observada en las ramas con hojas sin duplicar fue la presencia de estomas fusionados, mencionada también por Herrera y Camayo (2008), que se debe al desequilibrio cromosómico que sufren las plantas haploides. Este análisis confirma que, las variables RELAH, DE y LONGE son discriminantes para el nivel de ploidía en plantas de café, debido que a menor relación longitud/ancho de la hoja, menor densidad estomática, mayor longitud de

las células guarda, se produce duplicación cromosómica (Herrera y Camayo, 2008; Orozco y Cassalet, 1974; Sreenivasan et al., 1992; Mishra et al., 1991).

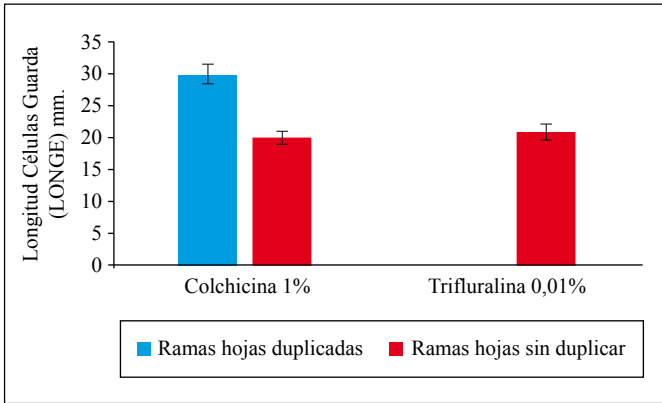
La evaluación del nivel de ploidía se relacionó con las variables antes evaluadas y se verificó que las ramas RHD contenían 44 cromosomas somáticos (Figura 13), lo cual indica una relación inversa con las variables RELAH y DE, y una relación directa con LONGE, confirmando que la ploidía en las plantas de café está asociada con la densidad estomática y la longitud de los estomas (Orozco y Cassalet, 1974).



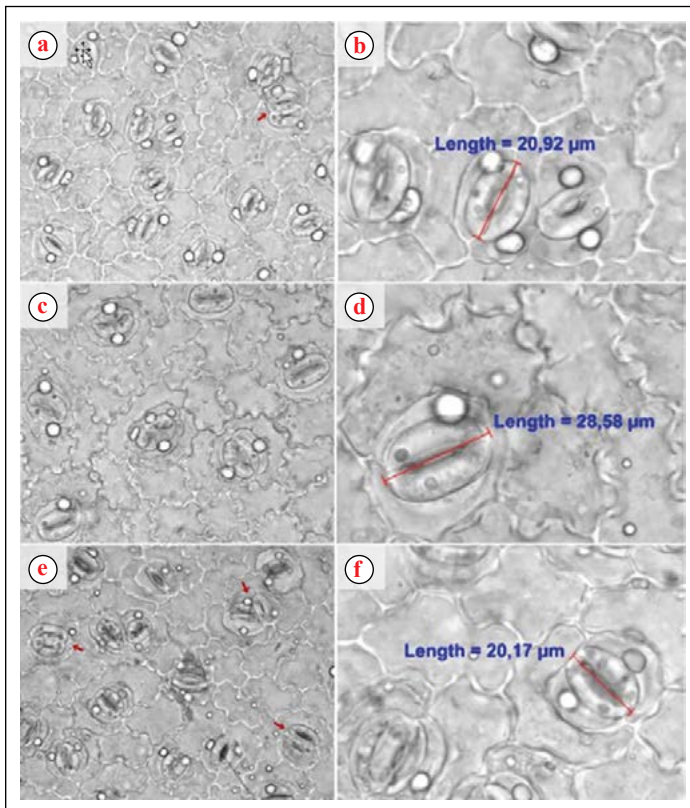
**Figura 9.** Evaluación de la relación longitud/ancho de las hojas en la duplicación *in vivo*. TRA1: tratamiento con colchicina 1%; TRA2: tratamiento con trifluralina 0,01%. Ramas con hojas duplicadas (RHD) y ramas con hojas sin duplicar (RHSD).



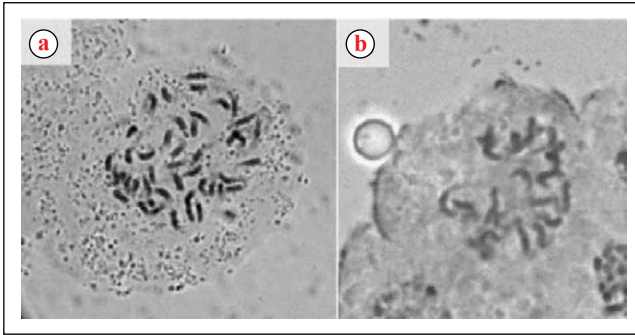
**Figura 10.** Evaluación de la densidad estomática de duplicación *in vivo*. TRA1: tratamiento con Colchicina 1%; TRA2: tratamiento con trifluralina 0,01%. Ramas con hojas duplicadas (RHD) y ramas con hojas sin duplicar (RHSD).



**Figura 11.** Evaluación de la longitud de las células guarda de estomas de duplicación *in vivo*. TRA1: tratamiento con Colchicina 1%; TRA2: tratamiento con trifluralina 0,01%. Ramas con hojas duplicadas (RHD) y ramas con hojas sin duplicar (RHSD).



**Figura 12.** Análisis citológico de las ramas con hojas duplicadas (RHD) y ramas con hojas sin duplicar (RHSD) con Colchicina al 1% (TRA1) y Trifluralina al 0,01% (TRA2). **a.** y **b.** Densidad estomática (DE) y longitud de las células guardas (LONGE) planta DH35, tratamiento con Colchicina (TRA1), estomas de mayor longitud y menor densidad estomática; **c.** y **d.** Densidad estomática (DE) y longitud de las células guardas (LONGE) planta DH42, tratamiento con Colchicina (TRA1), estomas de menor tamaño y fusionados (característica de las plantas DH), mayor densidad estomática; **e.** y **f.** Densidad estomática (DE) y longitud de las células guardas (LONGE) planta DH43, tratamiento con Trifluralina (TRA2), estomas de menor tamaño y fusionados (característica de las plantas DH), mayor densidad estomática.



**Figura 13.** Microfotografía de los cromosomas de hojas desarrolladas después del tratamiento de duplicación *in vivo* (ensayo IV). **a.** ramas con hojas duplicadas (RHD) de la planta DH36; **b.** ramas con hojas sin duplicar (RHSD) de la planta DH36.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó gracias al apoyo financiero de COLCIENCIAS por medio del contrato No. RC-0154-2012, correspondiente al proyecto: “Estudio de los factores limitantes para la obtención de plantas haploides en el mejoramiento del café en Colombia” (Código 2251-521-28565) y de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.

## LITERATURA CITADA

- Berthou, F. (1975). Méthode d'obtention de polypléides dans le genre *Coffea* par traitements localisés de bourgeons à la colchicine. *Café, Cacao Thé (Francia)*, 19(3), 197-202.
- Caperta, A. D., Delgado, M., Ressurreição, F., Meister, A., Jones, R. N., Viegas, W., & Houben, A. (2006). Colchicine-induced polyploidization depends on tubulin polymerization in c-metaphase cells. *Protoplasma*, 227(2), 147-153. <https://doi.org/10.1007/s00709-005-0137-z>
- Cho, M. S., & Zapata, F. J. (1988). Callus formation and plant regeneration in isolated pollen culture of rice (*Oryza sativa* L. cv. Taipei 309). *Plant Science*, 58(2), 239-244. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(88\)90014-3](https://doi.org/10.1016/0168-9452(88)90014-3)
- Davies, P. A., & Morton, S. (1998). A comparison of barley isolated microspore and anther culture and the influence of cell culture density. *Plant Cell Reports*, 17(3), 206-210. <https://doi.org/10.1007/s002990050379>
- Gaillard, A., Vergne, P., & Beckert, M. (1991). Optimization of maize microspore isolation and culture conditions for reliable plant regeneration. *Plant Cell Reports*, 10(2), 55-58. <https://doi.org/10.1007/BF00236456>
- Gustafson, V. D., Baenziger, P. S., Wright, M. S., Stroup, W. W., & Yen, Y. (1995). Isolated wheat microspore culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 42(2), 207-213. <https://doi.org/10.1007/BF00034239>
- Herrera, J. C., Moreno, L. G., Acuña, J. R., De Peña, M., & Osorio, D. (2002). Colchicine-induced microspore embryogenesis in coffee. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 71(1), 89-92. <https://doi.org/10.1023/A:1016564816602>
- Herrera, J. C., & Camayo, G. C. (2008). Caracterización morfológica y citológica de árboles de *Coffea arabica* L., regenerados por cultivo *in vitro* de polen aislado. *Revista Cenicafé*, 59(2), 143-154. <http://hdl.handle.net/10778/131>
- Kasha, K., (2005). Chromosome doubling and recovery of doubled-haploid plants. En C. Palmer, W. Keller, & K. Kasha (Eds). *Haploids in Crop Improvement II. Biotechnology in agriculture and forestry* (Vol. 56, pp. 123-152). Springer. [https://doi.org/10.1007/3-540-26889-8\\_7](https://doi.org/10.1007/3-540-26889-8_7)
- Mishra, M., Prakash, N., & Sreenivasan, M. (1991). Relationship of stomatal length and frequency to ploidy level in *Coffea* L. *Journal of Coffee Research*, 21(1), 32-41.
- Neuenschwander, B., Dufour, M., Baumann, T. W. (1993, June 6-11). *Haploid cell colony formation from mechanically isolated microspores of Coffea arabica* [Conference session]. 15th International Scientific Colloquium on Coffee, Montpellier, France. <https://www.asic-cafe.org/>

conference/15th-international-scientific-colloquium-coffee/haploid-cell-colony-formation

- Noirot, M. (1978). Polyploidisation de caféiers par la colchicine: Adaptation de la technique sur bourgeons axillaires aux conditions de Madagascar: Mise en évidence de chimères périclines stables. *Café, Cacao Thé(Francia)*. 22(3), 187-194.
- Orozco, F. J., & Cassalet, C. (1974). Relación entre las características estomáticas y el número cromosómico de un híbrido interespecífico en café. *Revista Cenicafé*. 25(2), 33-50. <http://hdl.handle.net/10778/1111>
- Raghuramulu, Y., & Prakash, N. S. (1996). Haploidy in coffee. In Jain S.M., Sopory S.K., Veilleux R.E. (Eds.), *Vitro haploid production in higher plants. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture* (Vol. 25, pp. 349-363). Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-1858-5\\_18](https://doi.org/10.1007/978-94-017-1858-5_18)
- Reddy, V.S., Leelavathi, S., & Sen, S.K. (1985). Influence of genotype and culture medium on microspore callus induction and green plant regeneration in anthers of *Oryza sativa*. *Physiologia Plantarum*, 63, 309-314. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1985.tb04271.x>
- Rodríguez-Serrano, M., Bárány, I., Prem, D., Coronado, M. J., Risueño, M. C., & Testillano, P. S. (2012). NO, ROS, and cell death associated with caspase-like activity increase in stress-induced microspore embryogenesis of barley. *Journal of Experimental Botany*. 63(5), 2007-2024. <https://doi.org/10.1093/jxb/err400>
- Sharp, W., Caldas, L., Crocomo, O., Monaco, L., & Carvalho, A. (1973). Production of *Coffea arabica* callus of three ploidy levels and subsequent morphogenesis. *Phyton*, 31(2), 67-74.
- Sreenivasan, M., Prakash, N., & Mishra M. (1992). Evaluation of some indirect ploidy indicators in *Coffea L. Café, Cacao Thé(Francia)*. 36(3). 199-205.
- Touraev, A., Indrianto, A., Wratschko, I., Vicente, O., & Heberle-Bors, E. (1996) Efficient microspore embryogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by starvation at high temperature. *Sexual Plant Reproduction*, 9(4), 209-215. <https://doi.org/10.1007/BF02173100>
- Zorinants, S., Tashpulatov, A.S., Heberle-Bors, E., & Touraev, A. (2005). The role of stress in the induction of haploid microspore embryogenesis. En C. Palmer., W.A. Keller & K.J. Kasha (Eds.) *Haploids in Crop Improvement II. Biotechnology in Agriculture and Forestry* (Vol. 56). Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/3-540-26889-8\\_3](https://doi.org/10.1007/3-540-26889-8_3)
- Zur, I., Dubas, E., Krzewska, M., Janowiak, F., Hura K., Pociecha E., Bączek-Kwinta, R., & Plazek, A. (2014). Antioxidant activity and ROS tolerance in triticale (x *Triticosecale* Wittm.) anthers affect the efficiency of microspore embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 119(1), 79-94. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0515-3>

# LA FERTILIZACIÓN MINERAL COMO COMPLEMENTO A LA FERTILIZACIÓN CON ABONO ORGÁNICO EN EL CULTIVO DEL CAFÉ

Fernando Farfán Valencia \*, José Enrique Baute Balcázar \*\*

Farfán-Valencia, F., & Baute-Balcázar, J. E. (2020). La fertilización mineral como complemento a la fertilización con abono orgánico en el cultivo del café. *Revista Cenicafé*, 71(1), 48-53. <https://doi.org/10.38141/10778/1119>

Con el propósito de evaluar diferentes fuentes potásicas minerales naturales, en mezcla con pulpa de café descompuesta para emplearlas como fertilizantes en el cultivo del café, en la Estación Experimental de Pueblo Bello, ubicada en el municipio de Pueblo Bello, departamento de Cesar, zona cafetera norte de Colombia; se evaluaron dos fuentes de potasio: Sulfato de Potasio ( $K_2SO_4$ ) y Sulpomag ( $K_2SO_4 \cdot 2MgSO_4$ ), sobre la producción en kilogramos.ha<sup>-1</sup> de café pergamino seco; esta producción fue comparada con la obtenida al fertilizar con fertilizantes inorgánicos, con materia orgánica y un testigo sin fertilizar; el café fue establecido a densidades de 3.922, 6.060 y 7.843 plantas/ha en un sistema agroforestal. De los resultados se obtuvo que en la fertilización del café bajo sombrío pueden adoptarse alternativas como la aplicación de materia orgánica en mezcla con fuentes de potasio como el  $K_2SO_4 \cdot 2MgSO_4$ , comercializado como Sulpomag, siempre que se establezcan altas densidades de siembra. El café establecido a densidades inferiores a 6.000 plantas por ha, puede ser fertilizado con fuentes orgánicas o inorgánicas.

**Palabras clave:** Sistemas agroforestales, café con sombrío, fertilización orgánica.

## MINERAL FERTILIZATION AS A COMPLEMENT TO ORGANIC FERTILIZATION IN COFFEE CULTIVATION

With the purpose of evaluating different natural mineral potassium sources mixed with decomposed coffee pulp to use them as fertilizers in coffee crops, two potassium sources were evaluated: Potassium Sulfate ( $K_2SO_4$ ) and Sulpomag ( $K_2SO_4 \cdot 2MgSO_4$ ) on the production in kilograms.ha<sup>-1</sup> of dry parchment coffee. The study was done at the Pueblo Bello Experimental Station, located in the municipality of Pueblo Bello, department of Cesar, northern Colombian coffee region. This production was compared with the one obtained with inorganic fertilizers, with organic matter and an unfertilized control; coffee was established at densities of 3.922, 6.060 and 7.843 plants.ha<sup>-1</sup> in an agroforestry system. The results showed that the fertilization of coffee with shade allow to provide alternatives such as the application of organic matter mixed with potassium sources such as  $K_2SO_4 \cdot 2MgSO_4$ , commercialized as Sulpomag, provided that high planting densities are established. Coffee established at densities of less than 6.000 plants per ha can be fertilized with organic or inorganic sources.

**Keywords:** Agroforestry systems, shade coffee, organic fertilization.

\* Investigador Científico II. Disciplina de Fitotecnia, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia. <https://orcid.org/0000-0003-0976-8828>.

\*\* Asistente de Investigación. Disciplina de Experimentación, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-5540-7746>.



La producción de café en Colombia tuvo un crecimiento cercano al 90% en los últimos siete años, al pasar de 7,7 millones en 2012 a 14,7 millones de sacos de 60 kilos de café verde en 2019 (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia [FNC], 2020). Teóricamente para haber alcanzado este volumen productivo, en las fincas cafeteras se produjeron cerca de 2.130.000 toneladas de pulpa de café fresca (Montilla et al., 2008), de las cuales se obtendrían alrededor de 948.459 toneladas de abono orgánico a los seis meses de su transformación (Roa et al., 1999). Si se aplicaran 3,0 kg de este material orgánico por planta de café y por año, sería suficiente para fertilizar cerca de 52.692 hectáreas de café, con una densidad promedio de 6.000 plantas/ha. Lo que contribuiría a estimular el uso de los subproductos de la producción cafetera y a hacer empleo racional de los fertilizantes inorgánicos; teniendo en cuenta que la aplicación podría afectar los costos de producción, por incremento de la mano de obra para la fertilización con pulpa de café descompuesta.

De otro lado, para su mejor expresión en cuanto a producción, el café requiere de suelos con altos contenidos de materia orgánica (>8,0%), ricos en nutrientes especialmente potasio y suelos con pH entre 5,0 y 5,5; pero se cultiva café en regiones con suelos donde, por su material parental entre otros, son evidentes condiciones contrarias a las anteriormente descritas, por ejemplo suelos de la Unidad Malabar, derivados de cenizas volcánicas, ácidos, con bajos contenidos de materia orgánica y de potasio, comunes en los municipios cafeteros de Convención, Arboleda, Teorama, San Calixto en Norte de Santander, algunos municipios como González y Río de Oro en el departamento de Cesar, o municipios como Calarcá, Armenia y La Tebaida, en el departamento del Quindío, en los cuales se encuentran los suelos de la Unidad Quindío,

derivados de cenizas volcánicas (González, 2013).

Bajo estas condiciones de cultivo es fundamental implementar las prácticas necesarias de adecuación del suelo, tendientes a nivelar los tenores de pH, incrementar los contenidos de materia orgánica y nutrientes, especialmente potasio, con el propósito de cubrir las expectativas socio-económicas del caficultor. Cuzato et al. (2014) sostienen que el rendimiento del café aumenta con el suministro de potasio, independiente de la fuente. Las prácticas de adecuación deben establecerse desde la siembra y continuar con ellas durante todos los ciclos productivos del cultivo, tendientes a mantener la producción alta y estable. Sadeghian (2008) plantea que entre las alternativas para corregir la acidez del suelo es necesaria la aplicación de cales y el uso de abonos orgánicos, aspecto en el cual los subproductos del beneficio del café, como la pulpa descompuesta, podrían hacer un gran aporte.

En la Estación Experimental de Pueblo Bello de Cenicafé, ubicada en el departamento de Cesar, se realizó una investigación tendiente a evaluar las mezclas de abono a base de pulpa de café y fuentes de potasio, para fertilizar el café establecido a diferentes densidades de siembra, y obtener el máximo rendimiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Sitio de estudio.** La investigación se realizó en la Estación Experimental de Pueblo Bello, ubicada en el municipio de Pueblo Bello, departamento de Cesar. En la Tabla 1 se presentan las características de clima y suelos de la localidad.

**Material vegetal.** Se utilizó café Variedad Castillo<sup>®</sup>, establecido bajo un sombrío de *Inga*

*edulis* (guamo santafereño), con densidades cercanas a los 70 árboles/ha.

**Tratamientos.** Se evaluaron 15 tratamientos producto de la combinación de dos factores; tres densidades de siembra del café y cinco alternativas de fertilización, como se describen en la Tabla 2.

**Diseño experimental.** Los tratamientos fueron asignados aleatoriamente, de acuerdo con el diseño experimental bloques completos al azar, en arreglo de parcelas divididas, donde el factor de bloqueo fue el

gradiente de fertilidad del lote, la parcela principal fueron las densidades de siembra del café y las subparcelas las alternativas de fertilización.

**Características de las parcelas.** En la Tabla 3 se presentan las características de las parcelas experimentales. El campo experimental ocupó un área total cercana a 2,2 ha.

**Análisis estadístico:** Análisis de varianza al 5% bajo el diseño experimental propuesto, con la variable de respuesta y se aplicó la prueba de comparación de Tukey al 5%.

**Tabla 1.** Características de clima y suelos, Estación Experimental Pueblo Bello, Pueblo Bello-Cesar.

Localización geográfica		Características de suelos	
Latitud	10° 25'	pH	4,6
Longitud	73° 34'	Materia orgánica (%)	7,1
Altitud (m)	1.100	Nitrógeno (%)	0,3
Características climáticas		Fósforo (mg.kg <sup>-1</sup> )	9,5
Temperatura media (°C)	21,2	Potasio (cmol <sub>(+)</sub> .kg <sup>-1</sup> )	0,5
Precipitación (mm)	2.050	Calcio (cmol <sub>(+)</sub> .kg <sup>-1</sup> )	3,4
Brillo solar (horas año)	2.380	Magnesio (cmol <sub>(+)</sub> .kg <sup>-1</sup> )	1,0
Humedad relativa (%)	74,0	Ecotopo	402A

**Tabla 2.** Densidades de siembra por alternativas de fertilización del café. Estación Experimental Pueblo Bello, Pueblo Bello-Cesar.

Descripción	
Densidad de siembra del café (Plantas/ha)	Fertilización
3.922	Solo Lombricompuesto <sup>1</sup>
6.060	Fertilización inorgánica <sup>2</sup>
7.843	Sin fertilización
	Lombricompuesto + Sulfato de potasio <sup>3</sup>
	Lombricompuesto + Sulpomag <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Pulpa de café transformada mediante la lombriz roja californiana (*Eisenia fetida*), en dosis de 30 t ha-año<sup>-1</sup>

<sup>2</sup> Fertilización con las fuentes y dosis recomendados en el análisis de suelos

<sup>3</sup> Sulfato de Potasio K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50% de K<sub>2</sub>O y 17% de SO<sub>3</sub>

<sup>4</sup> Sulpomag K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.2MgSO<sub>4</sub> 22% de K<sub>2</sub>O, 18% de MgO y 22% de SO<sub>4</sub>

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Producción.** En la Tabla 4 se presenta la producción acumulada de cinco cosechas (2010-2014) de café pergamino seco c.p.s. (kg ha<sup>-1</sup>), en cafetales establecidos en tres densidades de siembra.

El análisis de varianza para el modelo experimental propuesto no mostró significancia estadística ( $p > 0,05$ ) para la interacción densidad de siembra del café x fertilización, lo que indica un efecto independiente de los factores sobre la producción. Por lo tanto se realizaron pruebas de comparación de medias, Tukey (5,0%), de cada densidad de siembra evaluada, registrando bajo la densidad de siembra del café de 3.900

plantas/ha, que no hay diferencias estadísticas entre las fuentes de fertilización estudiadas; puede inferirse que a bajas densidades de siembra y bajo sombrío es indiferente la fuente de fertilizante aplicado al cultivo, con una producción promedio bajo este número de plantas por hectárea de 4.554 kg ha<sup>-1</sup> de café pergamino, acumulados en cinco cosechas. Jessy (2011) encontró respuesta a la aplicación de fertilizantes al café bajo sombrío después del quinto año, con menor estrés por deficiencia hídrica en el suelo en plantas en las cuales su fertilización estuvo suplementada con fuentes de potasio.

Bajo la densidad de siembra del café a 6.000 plantas/ha la más baja producción, 4.051 kg ha<sup>-1</sup>

**Tabla 3.** Número de plantas de café y de sombrío por parcela y parcela efectiva.

Área parcela Efectiva (m <sup>2</sup> )	Distancias de siembra del café (m)	Distancias de siembra del sombrío (m)	Plantas efectivas	
			Café	Sombrío
364,7	1,5 X 1,70	12 X 12	143	1
364,7	1,5 X 1,10	12 X 12	221	1
364,7	1,5 X 0,85	12 X 12	286	1

**Tabla 4.** Producción acumulada de cinco cosechas (kg ha<sup>-1</sup> de c.p.s.) y tres densidades de siembra. Estación Experimental Pueblo Bello, Pueblo Bello-Cesar.

Fertilización	Densidad de siembra del café (plantas/ha)		
	3.922	6.060	7.843
1	4.566 a	5.197 a	6.136 b
2	4.630 a	5.269 a	5.305 c
3	4.422 a	4.051 b	4.515 d
4	4.473 a	5.084 a	6.206 b
5	4.680 a	5.194 a	7.014 a
c.v	0,40	0,38	0,23

Fertilización: (1) Solo lombricompuesto; (2) Fertilización inorgánica; (3) Sin fertilización; (4) Lombricompuesto + Sulfato de potasio; (5) Lombricompuesto + Sulpomag. Letras distintas representan diferencia estadística entre tratamientos según la prueba de Tukey al 5%.

de café pergamino seco, acumulados durante cinco cosechas, se registró con el tratamiento testigo (sin fertilización). En general, no se registraron diferencias estadísticas al comparar las producciones obtenidas al fertilizar el café con las diferentes fuentes evaluadas, con un promedio de la producción de 5.186 kg ha<sup>-1</sup> de café pergamino seco. Ochoa et al. (2000) sostienen que la fertilización con materia orgánica debe ser suplementada con diversas fuentes entre las que se destacan las fosfóricas, para obtener los mejores índices de crecimiento y rendimiento, de lo contrario las plantas de café manifestarán limitadas producciones acumuladas.

Al incrementar la densidad de siembra del café a 7.800 plantas/ha se registraron diferencias estadísticas, según prueba de comparación Tukey (5,0%), entre la producción al fertilizar el café con materia orgánica complementada con sulpomag y la fertilización orgánica, y la fertilización inorgánica y la fertilización con materia orgánica complementada con sulfato de potasio. La más baja producción se obtuvo sin fertilización. Martins y Furlani (2010) indican que es de esperar que plantaciones de café, que utilicen cultivares adaptados a condiciones ambientales regionales con una densidad de población óptima y una nutrición adecuada muestren respuestas de alto rendimiento.

En términos generales, las producciones obtenidas con las tres densidades de siembra estudiadas fueron relativamente bajas, comparadas con las registradas en estudios similares en esta localidad. Farfán y Mestre (2004) reportan producciones cercanas a los 11.263 kg ha<sup>-1</sup> de café pergamino seco, acumulado durante seis cosechas, con una densidad de siembra de 4.500 plantas/ha de café y bajo sombrío de *Inga edulis*. La respuesta del café a la fertilización dependerá del estado nutricional del suelo, la extensión de la sombra, la absorción de nutrientes por el

árbol de sombra y el reciclaje de los nutrientes a través de la poda y la hojarasca (Jessy, 2011).

En la fertilización del café bajo sombrío pueden adoptarse alternativas de fertilización como la aplicación de materia orgánica en mezcla con fuentes de potasio como el K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.2MgSO<sub>4</sub>, comercializado como Sulpomag, siempre que se establezcan altas densidades de siembra. Aplicación de tecnologías donde se combinen los fertilizantes inorgánicos con los orgánicos son estrategias adecuadas para reducir los costos de producción, incrementar la productividad y realizar una fertilización equilibrada (Melke & Itana, 2015).

El café establecido a densidades inferiores a 6.000 plantas/ha, puede ser fertilizado con fuentes orgánicas o inorgánicas. Es recomendable realizar las evaluaciones del porcentaje de cobertura o de sombreado, hacer su regulación hasta obtener un porcentaje de acuerdo al número de horas de brillo solar al año (Farfán & Jaramillo, 2009) y posteriormente realizar la fertilización, debido a que la respuesta del café a la fertilización está determinada por la disponibilidad de luz dentro del cultivo. Con el empleo de subproductos de la producción de café se obtienen beneficios adicionales como regulación del pH del suelo e incrementos del fósforo y potasio, aparte de los beneficios ecológicos asociados al cultivo (Haggar et al., 2011).

## LITERATURA CITADA

- Cuzato-Mancuso, M. A., Peres-Soratto, R., Costa, A. A., & Amaral, G. S. (2014). Effect of potassium sources and rates on arabica coffee yield, nutrition, and macronutrient export. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38(5), 1448-1456. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832014000500010>
- Farfán, F., & Mestre, A. (2004). Fertilización del café en un sistema agroforestal en la zona cafetera norte de

- Colombia. *Revista Cenicafé*, 55(3), 232-245. <http://hdl.handle.net/10778/255>
- Farfán, F., & Jaramillo, A. (2009). Sombrio para el cultivo del café según la nubosidad de la región. *Avances Técnicos Cenicafé*, 379, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/376>
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2020, s. f.). *Estadísticas cafeteras, Precios, área y producción de café*. <https://federaciondefcafeteros.org/wp/estadisticas-cafeteras>
- González, H. (2013). Identificación de las principales Unidades de suelos de la zona cafetera. En Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (Ed.), *Manual del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura* (Vol. 1, pp. 269-283). Cenicafé.
- Haggar, J., Barrios, M., Bolaños, M., Merlo, M., Moraga, P., Munguia, R., Ponce, A., Romero, S., Soto, G., Staver, C., & Virginio, E. (2011). Coffee agroecosystem performance under full sun, shade, conventional and organic management regimes in Central America. *Agroforestry Systems*, 82, 285-300. <https://doi.org/10.1007/s10457-011-9392-5>
- Jessy, M. D. (2011). Potassium management in plantation crops with special reference to tea, coffee and rubber. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 24(1), 67-74.
- Martins, P. M., & Furlani, J. E. (2010). Yield performance and leaf nutrient levels of coffee cultivars under different plant densities. *Scientia Agricola*, 67(6), 720-726. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000600015>
- Melke, A., & Ittana, F. (2015). Nutritional Requirement and Management of Arabica Coffee (*Coffea arabica* L.) in Ethiopia: National and Global Perspectives. *American Journal of Experimental Agriculture*, 5(5), 400-418. <https://doi.org/10.9734/AJEA/2015/12510>
- Montilla, J., Arcila, J., Aristizábal, M., Montoya, E. C., Puerta, G. I., Oliveros, C. E., & Cadena, G. (2008). Propiedades físicas y factores de conversión del café en el proceso de beneficio. *Avances Técnicos Cenicafé*, 370, 1-8. <http://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/358>
- Ochoa, M., Rivera, R., Bustamante, C., & Rodríguez, M. I. (2000). La fertilización fosfórica del *Coffea arabica* L. en suelo ferrítico rojo oscuro. Parte I. Fertilización Mineral. *Cultivos Tropicales*, 21(1), 73-79.
- Roa, G., Oliveros, C. E., Álvarez, J., Ramírez, C. A., Sanz, J. R., Dávila, M. T., Álvarez, J. R., Zambrano, D. A., Puerta, G. I., & Rodríguez, N. (1999). Lombricultura con subproductos del café. En Roa, G., Oliveros, C. E., Álvarez, J., Ramírez, C. A., Sanz, J. R., Dávila, M. T., Álvarez, J. R., Zambrano, D. A., Puerta, G. I., & Rodríguez, N. (Eds.), *Beneficio ecológico del café* (pp. 202-209). Cenicafé.
- Sadeghian, S. (2008). Fertilidad del suelo y nutrición del café en Colombia. *Boletín Técnico Cenicafé*, 32, 1-44. <http://hdl.handle.net/10778/587>

# PRODUCCIÓN DE CAFÉ EN RESPUESTA AL FRACCIONAMIENTO DE LA FERTILIZACIÓN

Hernán González Osorio \*, Siavosh Sadeghian Khalajabadi \*\*

González-Osorio, H., & Sadeghian, S. (2020). Producción de café en respuesta al fraccionamiento de la fertilización. *Revista Cenicafé*, 71(1), 54-67. <https://doi.org/10.38141/10778/1120>

La fertilización constituye una práctica clave en la producción de café y su efectividad depende de la pertinencia y oportunidad con la que se efectúe. Considerando la diversidad de suelos en los que se cultiva el café en Colombia, el costo de los fertilizantes y las variaciones de los factores climáticos que inciden en el cultivo, el fraccionamiento de la fertilización es una estrategia tendiente al incremento de la productividad. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del fraccionamiento de la fertilización en la producción anual de café y en el acumulado del ciclo productivo, en seis localidades de la zona cafetera (El Agrado-Quindío, El Rosario-Antioquia, Naranjal-Caldas, Paraguaicito-Quindío, El Porvenir-Caldas y San Antonio-Santander), con características climáticas y de suelos diferentes. Las dosis de fertilizante se establecieron según las recomendaciones del análisis de suelo, para cada localidad y se aplicó fraccionado en dos, tres, cuatro y seis veces al año. En cinco localidades no hubo efecto del fraccionamiento, pese a que la pluviosidad superó en al menos dos años de evaluación, los niveles históricos de más de 30 años. En Paraguaicito, cuyo suelo presenta alta conductividad hidráulica, fraccionar el fertilizante en cuatro y seis oportunidades condujo al aumento promedio del 12% en la producción solamente en uno de los cuatro años evaluados. Los resultados permiten concluir que el suministro del fertilizante requerido según el análisis de suelos puede hacerse en dos fracciones por año.

**Palabras clave:** Conductividad hidráulica, efectividad de la fertilización, ENOS- La Niña, textura, zona cafetera colombiana.

## COFFEE YIELD RESPONSE TO SPLIT FERTILIZATION

Fertilization is a key practice in coffee production, its effectivity depends on relevance and timing. Considering the diversity of soils used to grow coffee in Colombia, the cost of fertilizers and the variations in climatic factors that affect cultivation, split fertilization is a strategy aimed at increasing productivity. The main objective of our study was to evaluate the effect of split fertilization on annual coffee production as the accumulated of the productive cycle in six localities of the coffee zone (El Agrado-Quindío, El Rosario-Antioquia, Naranjal-Caldas, Paraguaicito-Quindío, El Porvenir-Caldas and San Antonio-Santander) that have different climatic and soil characteristics. Fertilizers doses were established according to the recommendations of the soil analysis for each locality and applied split into two, three, four, and six times per year. There was no split effect in five localities, despite the fact that the rainfall exceeded the historical levels of more than 30 years in at least two years of evaluation. At Paraguaicito, whose soil has high hydraulic conductivity, the split fertilization at four and six times per year increased around 12% in production only in one of the four years evaluated. The results show that the supply of the required fertilizer, according to the soil analysis, can be done in two splits per year.

**Keywords:** hydraulic conductivity, fertilization effectiveness, ENSO- La Niña, soil texture, Colombian coffee region.

\* Investigador Científico I. Disciplina de Suelos, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-5716-2172>.

\*\* Investigador Científico III. Disciplina de Suelos, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia. <https://orcid.org/0000-0003-1266-0885>.



El crecimiento, desarrollo y producción de los cultivos se deriva entre otros aspectos, de un programa adecuado y oportuno de fertilización (McArthur y McCord, 2019; Ierna y Mauromicale, 2018). Por medio de esta práctica se busca corregir y prevenir las deficiencias nutricionales de la plantación, contribuir con la calidad de las cosechas y sostener la fertilidad del suelo con el fin de que las plantas puedan nutrirse en el momento que lo necesiten. La eficiencia en esta labor depende de la oportunidad con la que se realice, de las características del suelo y las condiciones climáticas incidentes en los sistemas de producción principalmente (Arcila, 2007).

La selección de las fuentes fertilizantes puede incidir en el aprovechamiento de los nutrientes aplicados en los planes de fertilización. Algunas incluyen en su formulación moléculas que contribuyen a reducir las pérdidas de nutrientes por volatilización (Afshar et al., 2018), son de liberación gradual (Niemi et al., 2015) o contienen formas químicas predominantes que al ser adsorbidas en el suelo retardan la lixiviación (Tian et al., 2018; Cao et al., 2014). Pese a que estas alternativas se vienen desarrollando con miras al incremento de la productividad y la reducción de riesgos ambientales en diferentes regiones del mundo (Zhang et al., 2018), su utilización no es garantía de que la nutrición de las plantas sea eficiente; se requiere entonces tanto para este tipo de fertilizantes como para las fuentes convencionales, que en su implementación se integren otros factores que inciden en los sistemas de producción (Liu et al., 2017; Tully et al., 2012), particularmente en áreas diversas en recursos naturales como la zona cafetera de Colombia. Por lo mencionado, el ajuste a los factores que determinan la eficiencia a la fertilización ha sido labor permanente para la caficultura del país como dosis de fertilizantes (Sadeghian y González, 2012),

fuentes (Sadeghian et al., 2007), formas de aplicación y su fraccionamiento a través del tiempo (Mestre y Uribe, 1980).

En café, con base en estos y otros criterios, desde la década del 70 se planteó la necesidad de definir la frecuencia de aplicación de fertilizantes para diferentes regiones de la zona cafetera del país y fue a partir de estos estudios, que se generó la recomendación de suministrar el fertilizante requerido por año para cafetales en producción cada seis meses, basados en el hecho de que mediante el empleo de dicha práctica se obtienen los mayores beneficios desde el punto de vista económico (Mestre y Uribe, 1980). Sin embargo, aún persisten interrogantes si se debe o no fraccionar, en más de dos oportunidades la fertilización puesto que, una vez se disuelven los fertilizantes, los nutrientes en ellos contenidos quedan a disposición de las raíces del cultivo, en caso tal que la planta pueda absorberlos, una aparte queda como reserva en el suelo (incluida la inmovilización microbiana) y otro tanto en el agua que se percola en el suelo y los conduce a sitios donde la raíz no alcanza (Ghiberto et al., 2009; Sadeghian et al., 2015).

Por lo mencionado, ante eventos de variabilidad climática, la generación de nuevas variedades con atributos de producción y calidad, así como la volatilidad en el precio de los fertilizantes, se hace necesario continuar en la búsqueda de alternativas que contribuyan con el aumento de la productividad en la zona cafetera colombiana. Por esta razón, se planteó como objetivo evaluar el efecto del fraccionamiento del fertilizante requerido por año, según el análisis de suelos en la producción del café, para diferentes condiciones edáficas y ambientales de la zona cafetera colombiana, como una estrategia de orientación para que la práctica de fertilización se refleje exitosamente desde el punto de vista productivo, económico y ambiental.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para alcanzar el objetivo, el presente experimento se desarrolló en plantaciones de café Variedad Castillo<sup>®</sup>, ubicadas en seis localidades de la zona cafetera, con características de suelos y condiciones de pluviosidad diferentes (Tablas 1 y 2).

Durante la fase de crecimiento vegetativo, los cafetales recibieron una fertilización general basada en las recomendaciones que para tal caso tiene Cenicafé (Sadeghian, 2008), de acuerdo con los resultados del análisis de suelos (Tabla 2).

Una vez la plantación alcanzó 18 meses de edad, fue tomada una nueva muestra para su análisis, con el fin de establecer la fertilización de la fase reproductiva, en la cual se aplicaron los siguientes tratamientos, consistentes en el suministro de la fertilización requerida por año en cuatro diferentes épocas:

**Tratamiento 1.** Aplicación del fertilizante requerido fraccionado o distribuido en dos épocas del año (50% en el primer semestre y 50% en el segundo), es decir, cada semestre.

**Tratamiento 2.** Aplicación del fertilizante distribuido en tres épocas en el año (33% cada cuatro meses).

**Tratamiento 3.** Aplicación del fertilizante distribuido en cuatro épocas en el año (25% cada tres meses).

**Tratamiento 4.** Aplicación del fertilizante distribuido en seis épocas del año, lo cual significa, que la fertilización se realizó cada dos meses (16% cada vez).

En adelante y cada dos años se tomaron muestras de suelos en las parcelas correspondientes al tratamiento 1, para hacer los ajustes en materia de fertilizantes y/o las enmiendas en la totalidad de los tratamientos evaluados.

Los meses seleccionados para la aplicación de los fertilizantes se mantuvieron durante los cuatro años de producción (Tabla 3), considerando necesario que existiera humedad suficiente en el suelo para efectuar la labor. Cuando por carencia de lluvias no hubiese sido posible realizarla, se dio espera hasta tanto el evento de lluvia se hiciera manifiesto.

**Tabla 1.** Ubicación y características de los sitios experimentales.

<b>Departamento</b>	Quindío	Antioquia	Caldas	Quindío	Caldas	Santander
<b>Municipio</b>	Montenegro	Venecia	Chinchiná	Buenavista	Manzanares	Floridablanca
<b>Finca</b>	El Agrado	El Rosario	Naranjal	Paraguaicito	El Porvenir	San Antonio
<b>Altitud (m)</b>	1.250	1.600	1.400	1.250	1.400	1.480
<b>Lluvia (mm año<sup>-1</sup>)</b>	1.810	2.230	2.400	2.100	4.013	1.160
<b>Plantas por hectárea</b>	10.000	5.917	8.888	5.917	5.917	5.917
<b>Inicio del experimento (año)</b>	2010	2010	2009	2011	2011	2010



**Tabla 2.** Características de los suelos antes de la aplicación de los tratamientos

		El Agrado	El Rosario	Naranjal	Paraguaicito	El Porvenir	San Antonio
<b>Materia Orgánica</b>	<b>%</b>	5,8	9,3	14,3	6,2	12,8	5,6
<b>pH</b>		4,4	4,5	5,3	5,1	5,0	5,0
<b>P</b>	<b>mg kg<sup>-1</sup></b>	210,0	29,8	34,0	115,0	5,0	12,0
<b>K</b>		0,3	0,7	0,3	0,2	0,4	0,2
<b>Ca</b>	<b>cmol<sub>c</sub> kg<sup>-1</sup></b>	1,0	2,4	3,24	3,3	2,1	2,9
<b>Mg</b>		0,1	0,6	1,2	0,4	0,5	0,6
<b>Al</b>		2,2	6,1	0,8	0,8	1,0	0,9
<b>Textura</b>	<b>Clase</b>	F.Ar.A.*	F.Ar.A.	F.A.**	F.Ar.A.	F.A.	F.Ar.A.

\*Textura franco-arcillo-arenosa: 48%-75% arena y 20%-35% arcilla.

\*\*Textura franco-arenosa: 52%-70% arena y <20% arcilla.

**Tabla 3.** Distribución del fertilizante requerido de acuerdo con los tratamientos evaluados.

Tratamiento	Frecuencia	Mes de aplicación											
	N° aplicaciones/año	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
1	2			■						■			
2	3			■				■					■
3	4			■			■			■			■
4	6	■		■		■		■		■		■	

Los fertilizantes utilizados correspondieron a fuentes simples o mezcla de las mismas realizadas en cada localidad, según lo sugerido por el análisis de suelos, utilizando para tal fin urea, fosfato diamónico-DAP, cloruro de potasio y/o kieserita y óxido de magnesio; para suplir los requerimientos de nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio, respectivamente.

El análisis de la información se basó en los siguientes criterios: para cada localidad y tratamiento se estimó el promedio y la variación de la variable de respuesta producción de café cereza (cc), durante los pases de recolección

y se consolidó la producción de cada año y la producción total, correspondiente al final de los cuatro años de cosecha.

Posteriormente, se hizo un análisis de varianza asociado al diseño experimental bloques completos al azar, con siete repeticiones, con la variable de respuesta (producción de café cereza) al 5%. Cuando el análisis de varianza mostró efecto de los tratamientos, se aplicó la prueba de Tukey al 5% para determinar los tratamientos con mayor producción con respecto al testigo relativo (tratamiento 1).

Con base en la información obtenida a partir de la Plataforma Agroclimática de Cenicafe (agroclima.cenicafe.org), se obtuvo la pluviosidad mensual durante la vigencia del experimento en cada localidad, con el fin de establecer de manera descriptiva las tendencias en el incremento o disminución de la lluvia frente a un mínimo histórico de 30 años según la estación agroclimática.

## RESULTADOS

La producción de café cereza presentó variaciones entre las localidades como consecuencia de las diferentes condiciones agroecológicas tales como horas luz, horas de brillo solar, lluvia y temperatura; los cuales determinan el crecimiento, el desarrollo y la producción del café en Colombia (FNC, 2013).

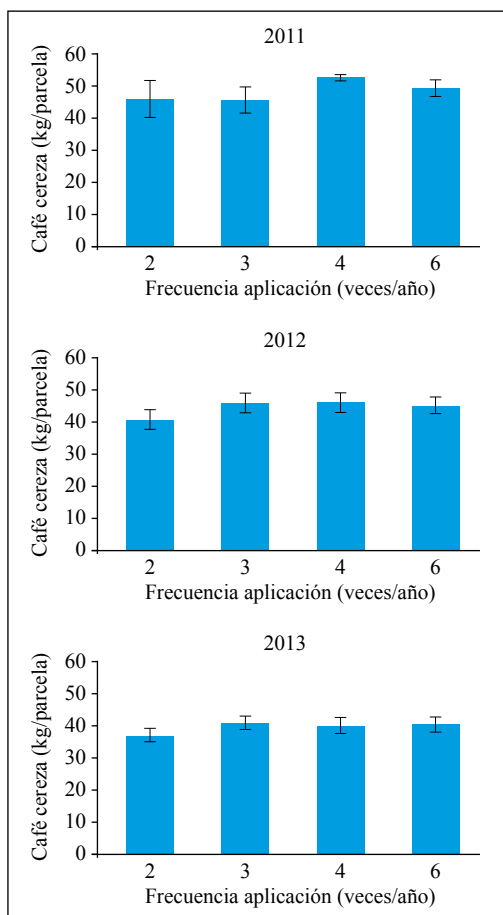
### Variación de la producción durante los años del estudio

En general, el primer año de producción registró un bajo nivel de cosecha por tratarse de plantaciones que se encontraban en período de transición entre la fase de crecimiento vegetativo y la reproductiva. Dicho fenómeno no fue evidente en El Agrado, en vista de que la plantación presentaba 24 meses de edad al momento del inicio de la aplicación de los tratamientos, esto significa que una diferencia de seis meses pudo haber permitido el desarrollo de una mayor cantidad de biomasa vegetativa (ramas y nudos principalmente), en la cual puede albergarse una mayor cantidad de flores y frutos, respecto a un cultivo de menor edad (18 meses), como el de las otras localidades evaluadas.

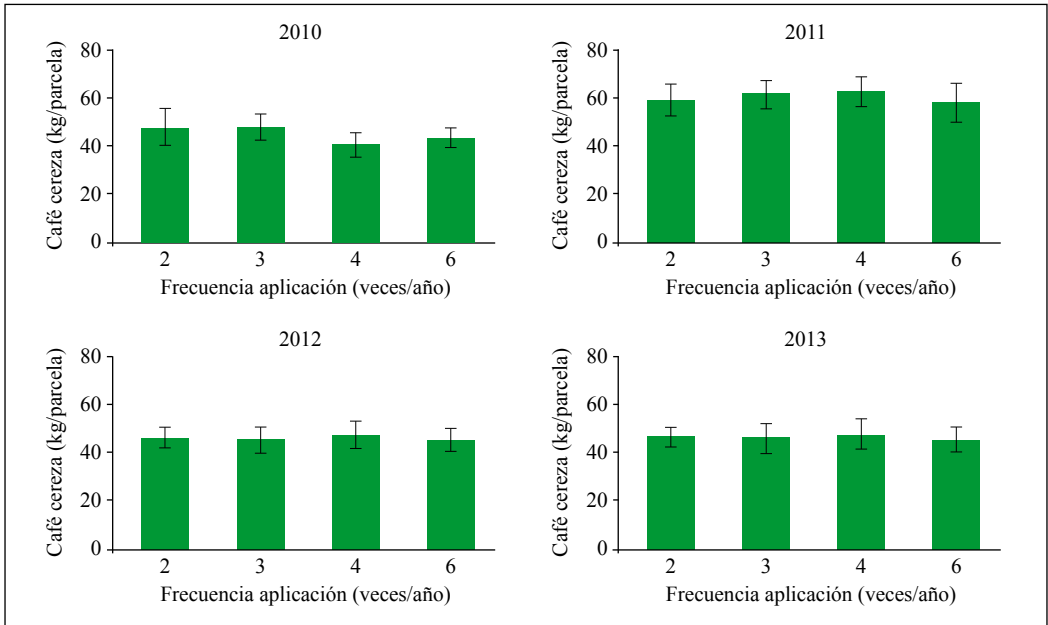
Con base en las anteriores consideraciones, los resultados presentaron la tendencia que se describe a continuación:

### Producción anual

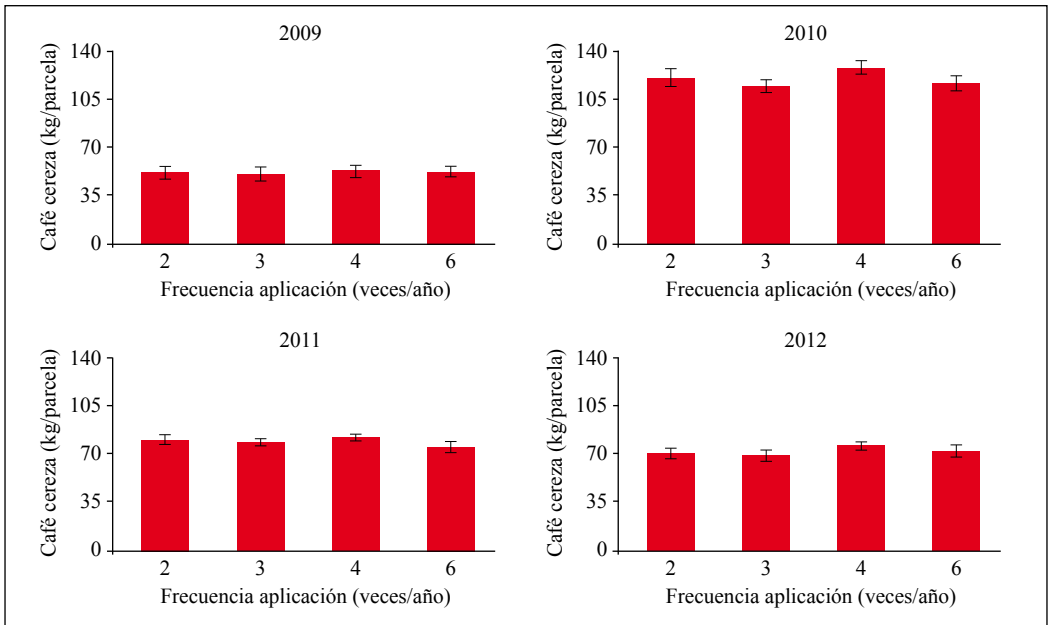
Mientras que, en El Agrado, El Rosario, Naranjal, El Porvenir y San Antonio, no se presentó efecto del fraccionamiento de la fertilización en la producción anual de café cereza durante la vigencia del experimento (Figuras 1, 2, 3, 5 y 6), en Paraguaquito la aplicación del fertilizante fraccionado cuatro y seis veces por año, condujo a incrementar la producción de café entre un 10% y 12% respecto a los demás tratamientos evaluados ( $P > 0,01$ ) durante 2013 (Figura 4).



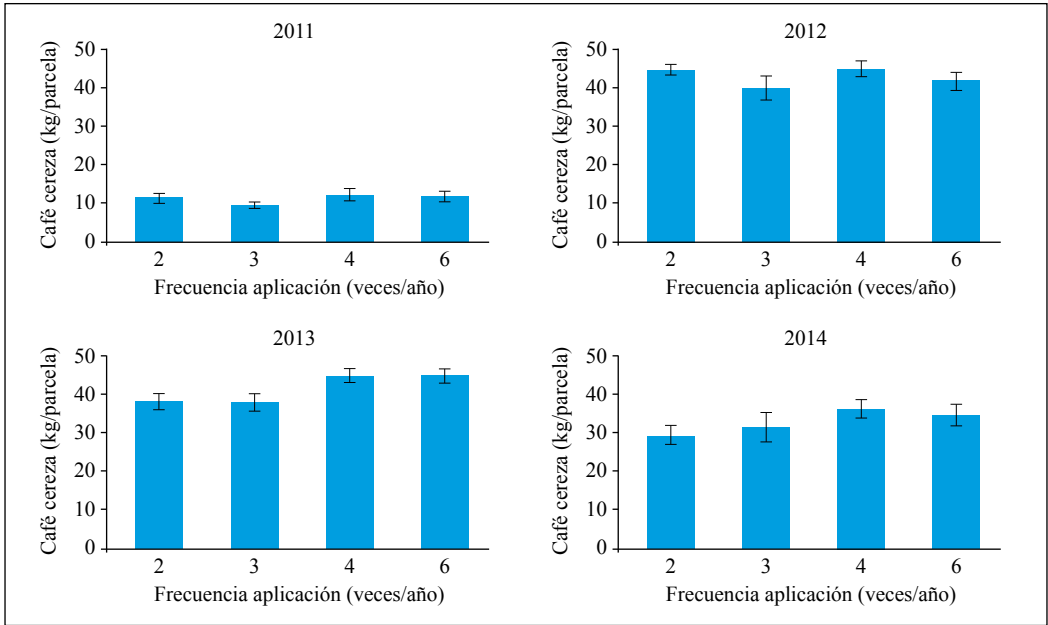
**Figura 1.** Promedios y variación (error estándar) de la producción anual de café cereza en El Agrado.



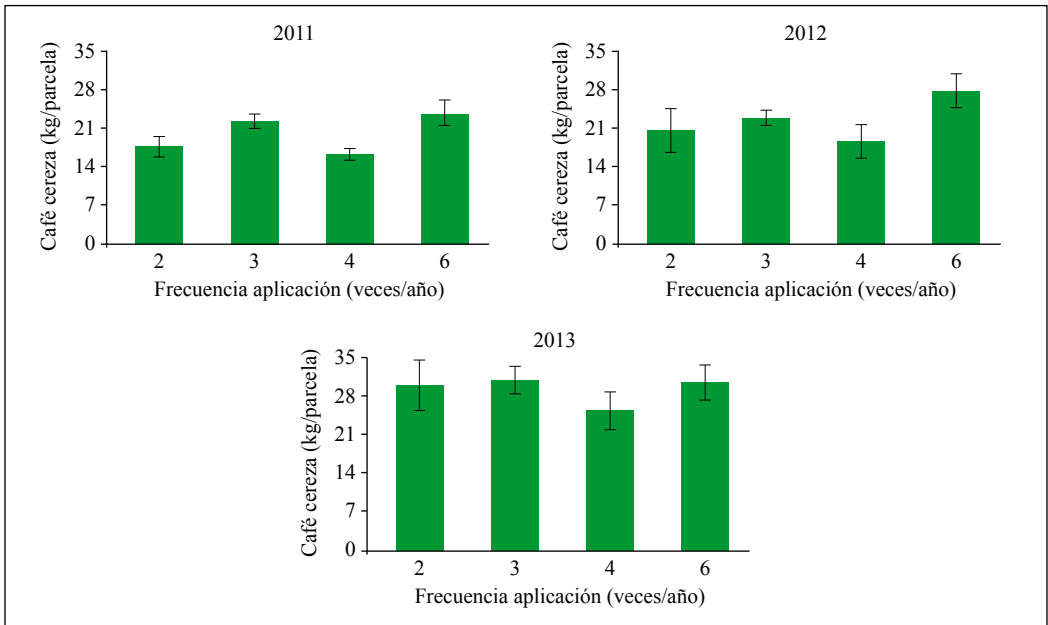
**Figura 2.** Promedios y variación (error estándar) de la producción anual de café cereza en El Rosario, por efecto del fraccionamiento de la fertilización.



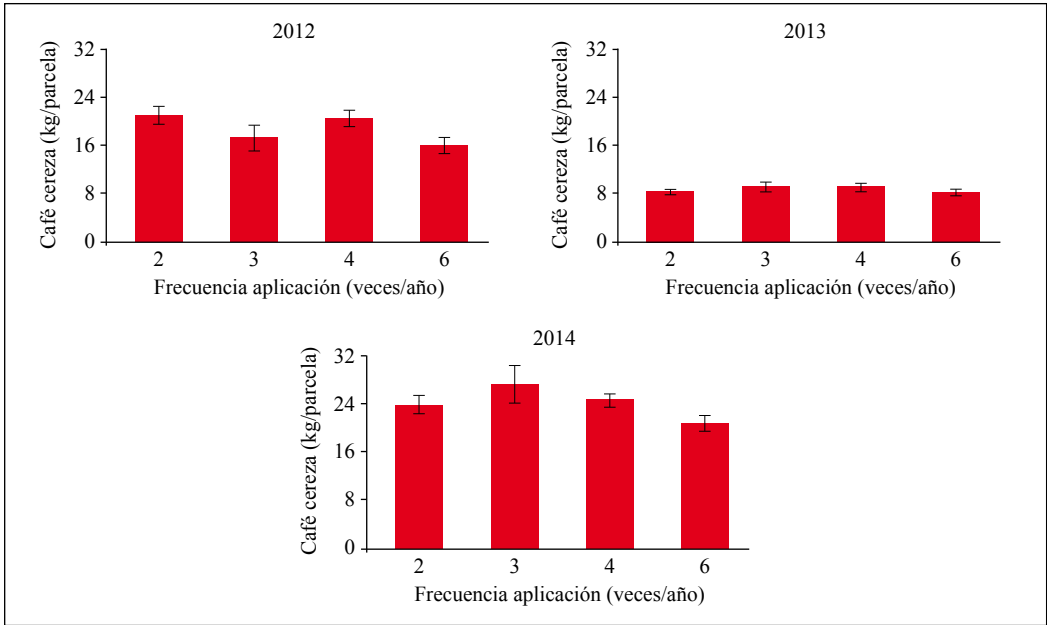
**Figura 3.** Promedios y variación (error estándar) de la producción anual de café cereza en Naranjal.



**Figura 4.** Promedios y variación (error estándar) de la producción anual de café cereza en Paraguaicito.



**Figura 5.** Promedios y variación (error estándar) de la producción anual de café cereza en San Antonio.



**Figura 6.** Producción promedio anual de café cereza y acumulado de cosecha 2012-2014 en El Porvenir.

### Producción acumulada

Con relación al acumulado de la producción, durante los diferentes años en los que se condujo el experimento para cada localidad objeto de estudio (Tabla 4), la práctica de fraccionar el fertilizante requerido cuatro y seis veces por año durante el último año de cosecha, influyó significativamente ( $P > 0,02$ ) sólo en Paraguaicito, en el acumulado del ciclo de producción (cuatro años). Para los demás sitios donde se desarrolló el estudio, no hubo efecto del fraccionamiento de la fertilización. Esto indica que la cantidad total de fertilizante por año puede suministrarse en dos o tres aplicaciones, por ser esta una labor que demanda menor cantidad de mano de obra en su implementación.

### Tendencias de la lluvia en las diferentes áreas experimentales

La cantidad de lluvia registrada en las diferentes áreas donde se llevó a cabo la investigación estuvo durante al menos dos

de los años evaluados, por encima de los registros históricos (Figura 7). Respecto a su distribución, esta fue de tipo bimodal en cinco de las localidades, distinguiéndose a nivel general marzo-abril y septiembre-octubre los dos períodos que en el año se presentaron las mayores precipitaciones y, por ende, fisiológicamente ha sido demostrado, constituyen dos momentos que marcan la fenología del cultivo. En El Porvenir, donde históricamente las precipitaciones superan los  $4.000 \text{ mm año}^{-1}$ , y en San Antonio con lluvia histórica inferior a todos los demás sitios, no se presentó el patrón de distribución antes mencionado.

Considerando lo anterior y en aras de tener mayores elementos para la discusión de los resultados, se presentan los registros de precipitación de los 12 meses que antecedieron al año de inicio de la aplicación de los tratamientos.

**Tabla 4.** Promedio de producción acumulada de café cereza por localidad. Letras no comunes indican diferencia estadística entre tratamientos (frecuencia de aplicación) según prueba Tukey al 5%.

Frecuencia aplicación (N° aplicaciones/año)	Acumulado producción (kg café cereza/parcela)								
	El Agrado		El Rosario		El Porvenir				
	Promedio	CV	Promedio	CV	Promedio	CV			
2	123,00	a	22,43	212,70	a	25,33	53,56	a	14,60
3	132,10	a	16,10	218,10	a	24,52	53,96	a	16,52
4	138,20	a	9,52	215,50	a	24,18	54,44	a	9,43
6	134,20	a	6,95	209,24	a	24,91	45,40	a	14,90

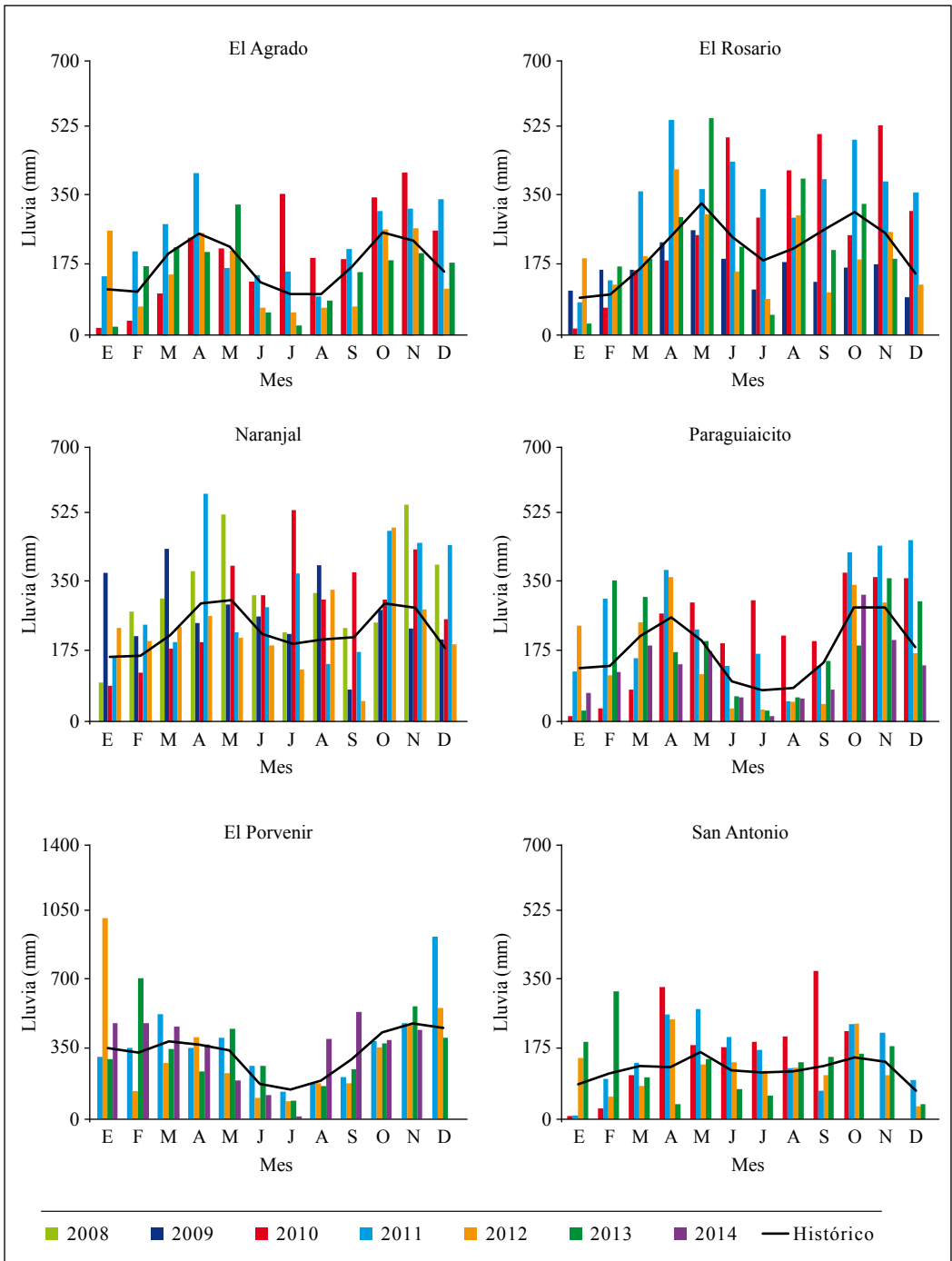
Frecuencia aplicación (N° aplicaciones/año)	San Antonio		Naranjal		Paraguacito				
	Promedio	CV	Promedio	CV	Promedio	CV			
	2	81,03	a	29,81	324,91	a	13,53	121,69	b
3	85,33	a	11,53	313,77	a	12,04	116,63	b	19,29
4	69,84	a	26,77	339,97	a	7,32	136,75	a	11,80
6	94,90	a	23,68	318,09	a	13,28	131,38	a	14,08

## DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que, para cinco de las seis localidades de la zona cafetera de Colombia en la que se llevó a cabo el estudio, fraccionar más de dos veces por año la cantidad de fertilizante requerida para cafetales en edad productiva según el análisis de suelos, no condujo a incrementar la producción.

Esto indica que la eficiencia de la fertilización en el cultivo de café involucra la acción de factores relacionados con el suelo y la selección de fuentes fertilizantes que, aplicados bajo condiciones climáticas específicas, conducen a suplir adecuada y oportunamente los requerimientos nutricionales necesarios para la producción del grano, sin comprometer el desarrollo de estructuras que soportan las cosechas siguientes.

En concordancia con lo anterior, en un ámbito general y desde el punto de vista climático, durante los años en los que se llevó a cabo la investigación fue evidente un incremento en las lluvias respecto al histórico, particularmente en aquellas localidades donde se hicieron evaluaciones entre 2009 y 2011, período que de acuerdo con el Ideam (2011), se presentó un evento climático La Niña catalogado como el más intenso de las últimas cuatro décadas. Por lo tanto, la pluviosidad analizada como único factor responsable de las pérdidas de nutrientes en el agua de percolación, tuvo que haber generado un impacto negativo en la producción de café cuando el fertilizante suministrado se fraccionó dos veces en el año (tratamiento 1), dado que a un mayor nivel de lluvia corresponderían incrementos en la pérdida de nutrientes por lixiviación y, por consiguiente, menor cantidad de elementos



**Figura 7.** Lluvia mensual e histórica para las localidades donde se desarrolló la investigación.

minerales para que la planta alcance su potencial de crecimiento y producción.

Es necesario entonces sumar a las anteriores circunstancias el tipo de suelo, dado que, dependiendo de sus características químicas y físicas, la pluviosidad puede inducir a que los nutrientes aplicados vía fertilización sean aprovechados por las plantas o escapen del sistema productivo en el corto, mediano o largo plazo (Georgiadis et al., 2017). Desde el punto de vista de las características químicas, resulta evidente que se proporcionaron los nutrientes y enmiendas sugeridas según los resultados del análisis de suelos realizado cada dos años, como lo recomienda Sadeghian (2008), aspecto que ratifica una adecuada periodicidad en el seguimiento a las condiciones nutricionales del suelo para la reposición de elementos extraídos y removidos por la planta, al tiempo de realizar los respectivos ajustes al plan de fertilizaciones y acondicionamientos en caso de haber sido necesario. Por otro lado, desde el punto de vista físico, se presume que la textura, especialmente aquella con predominio de arenas, condiciona la permanencia de los nutrientes aplicados vía fertilización (Lu et al., 2019) aunque dicho efecto puede depender del nutriente y la fuente empleada (Arias y Sadeghian, 2018). Sin embargo, es oportuno anotar que, en las condiciones del estudio, los lotes presentaron dos clases texturales, franco-arcillo-arenosa y franco-arenosa, en las cuales el contenido de arenas puede estar entre el 48% y el 75%. Aun así, los resultados en producción por efecto de la fertilización fraccionada tuvieron un comportamiento similar en las diferentes áreas del estudio.

Los resultados obtenidos entran en concordancia con lo encontrado por Uribe y Mestre (1980), salvo que, para el caso de estos autores, las cantidades de fertilizante objeto de estudio fueron superiores a lo actualmente recomendado. En consecuencia, la residualidad

de las fuentes objeto de estudio por efecto de la alta cantidad, pudo haber sido uno de los aspectos que condujo a enmascarar el posible efecto de su fraccionamiento a través del tiempo. Aun así, en una de las localidades evaluadas cuya pluviosidad superó 3.200 mm año<sup>-1</sup>, encontraron efecto del fraccionamiento durante uno de los años del estudio, particularmente cuando se utilizó la dosis más baja de fertilizante.

En Paraguaicito, sitio donde el fraccionamiento anual de la fertilización en cuatro y seis aplicaciones condujo al aumento del 12% en la producción para dos años evaluados y el acumulado del ciclo de producción, dicha respuesta puede tener explicación al asociar las condiciones climáticas con las características del suelo. Es decir, la conductividad hidráulica característica de este suelo, la cual según González y Sadeghian (2012), supera en un 70% a la de Naranjal (sitio donde la respuesta en producción fue independiente del fraccionamiento de la fertilización) puede facilitar la pérdida de nutrientes, particularmente en momentos en los cuales la planta puede necesitarlos más. Hansen y Eriksenm (2016) sostienen que la lixiviación de nitrógeno, nutriente más determinante para la producción de café en Colombia, puede ser significativamente alta en suelos en cuya fase sólida predominan las arenas gruesas, especialmente en épocas de alta precipitación.

Lo mencionado sugiere que la incidencia de la alta precipitación sobre una región cuyas características de suelo favorecen una rápida infiltración del agua que llega al suelo y, por ende, una mayor lixiviación de los nutrientes disueltos en ella, pueden brindar pautas para tomar la decisión acerca de las bondades que puede tener el fraccionamiento de la fertilización en la producción de café. Sustento de ello es que, durante 2013 la pluviosidad registrada



entre marzo y abril, época en la que coincide la aplicación de todos los tratamientos (Tabla 3), la lluvia registrada superó entre 30% y 60% al histórico de 50 años de observaciones (Figura 7), lo cual pudo inducir a la lixiviación de nutrientes en la totalidad de tratamientos; aunque la magnitud del fenómeno sería diferente tratándose de uno u otro. Por ejemplo, en los tratamientos 1 y 2 que son portadores del 50% y 33% del fertilizante total requerido por año, respectivamente, habría un mayor impacto si se comparan con los tratamientos 3 y 4, en cuyo caso el evento climático pondría en vulnerabilidad el 25% (tratamiento 3) o el 17% (tratamiento 4) del total del fertilizante suministrado. Sadeghian et al., (2013), sostienen que los dos meses luego de la floración, la cual es evidente en Paraguaiacito entre enero y febrero, se presenta la mayor acumulación de nutrientes en los frutos de café que llegan a su madurez de recolección seis meses después, lo cual para este caso corresponde al período comprendido entre septiembre y octubre del mismo año.

Lo anterior, puede explicar la respuesta al fraccionamiento, tanto en 2013 como para 2014. Circunstancia que puede asociarse con los aspectos que condicionan los tiempos fenológicos de un cultivo perenne como el café. Arcila (2007) concluye que, a partir de sus investigaciones, para las condiciones de la zona cafetera colombiana son necesarios 18 meses para la formación de una cosecha, es decir, se requieren entre cuatro y seis meses para generar ramas y nudos que serán soporte de unas estructuras florales, que necesitan de un período entre tres y cuatro meses para su total desarrollo y, a partir de la apertura floral, se requieren ocho meses adicionales para que el fruto llegue al estado de madurez para la recolección. Esto quiere decir que, cualquiera que fuese el plan de fraccionamiento de fertilización, este tuvo que haber impactado con mayor intensidad

el año inmediatamente anterior, dado que, para esta época, las estructuras de la planta que soportaron la producción, son en buena medida las que se empezaron a formar desde el inicio de 2013.

Para los sitios donde los resultados de este estudio han demostrado que fraccionar en más de dos oportunidades el fertilizante requerido según el análisis de suelos no afecta la producción, puede considerarse esta práctica como una opción para aquellos caficultores que no cuentan con los recursos para la adquirir la totalidad del fertilizante recomendado por año o por semestre, siempre y cuando se consideren las tendencias que sobre la variación climática divulguen las instituciones. Esto significa que mientras en un año con fenómeno de La Niña la fertilización podría llevarse a cabo fraccionada dos, tres, cuatro o seis veces tal como lo demuestra este estudio, durante un año con tendencia a la ocurrencia de un evento El Niño, debería tenerse la precaución de programar esta práctica en sólo dos oportunidades, pues se corre el riesgo de que la fertilización requerida por año quede incompleta como lo expresan González et al., (2014), dado que puede no haber certeza de la época del retorno de las lluvias, insumo que gobierna la humedad del suelo y brinda la posibilidad para que los nutrientes contenidos en los fertilizantes pasen a formar parte de la reserva del suelo y/o sean adquiridos por el cultivo.

Por último, es bien sabido que el tipo de fertilizantes y su forma de aplicación contribuyen significativamente con la eficiencia de la nutrición, específicamente cuando se utilizan fuentes como la urea, cuya reacción en el suelo conduce a que parte del nitrógeno que contiene se pierda por volatilización o se lixivie (González y Sadeghian, 2012a, 2012b). Pese a esto, estudios donde se han evaluado las citadas pérdidas han demostrado que para el caso de la volatilización en el cultivo del

café, esta puede disminuir cuando la urea se aplica esparcida sobre una superficie de suelo húmedo (González et al., 2015); en tanto que el potencial de lixiviación puede variar en función de que las condiciones edáficas favorezcan a la conversión preferencial de formas inorgánicas como los nitratos o amonio (Sadeghian et al., 2015), aspectos que pueden ser altamente variables en el tiempo y en el espacio, aun en cortas distancias.

Los demás nutrientes aplicados en los planes de fertilización del estudio, teóricamente presentarían sólo susceptibilidad a perderse por lixiviación o a fijarse en la matriz del suelo. Bajo este esquema, la investigación se ha centrado en el ámbito académico e industrial en proponer estrategias tendientes a la eficiencia en la fertilización, entre las que se destacan el uso de fertilizantes con recubrimiento (Niemić et al., 2015; Tian et al., 2018), el manejo de la acidez del suelo (Maresca et al., 2019) y el fraccionamiento de la fertilización. Todas de manera conjunta o adoptadas individualmente con resultados alentadores en cultivos de ciclo corto y en áreas con estacionalidad en el clima (Sowinski y Galb, 2018; Liu et al., 2017) o para nutrientes específicos como es el caso de nitrógeno en café en Brasil (Meriguetti et al., 2017), pero con respuesta no del todo satisfactoria en programas integrales de nutrición para el café y para las regiones cafeteras diversas en sus recursos climáticos y edafológicos, como lo demuestra esta investigación.

En el presente estudio se utilizaron fertilizantes de uso común en la caficultura del país, urea, DAP, KCl y kieserita u óxido de magnesio, como fuentes de nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio, respectivamente. Todos se suministraron en mezcla física, esparcidos sobre la superficie del suelo, alrededor de la zona de raíces de los árboles y sin cubrir, por ser esta una alternativa eficaz y de bajo

costo, comparada con la aplicación localizada y cubierta con el suelo, según lo demostraron Mestre y Uribe (1980). Dicha modalidad de aplicación según lo discutido anteriormente, implica que los fenómenos naturales que determinan las pérdidas de los componentes incluidos en las fuentes fertilizantes hayan actuado sin restricción. Este aspecto sustenta que los resultados obtenidos pueden estar satisfactoriamente explicados en función de las variables climáticas, de suelos y de fisiología de las plantas anteriormente discutidas.

## LITERATURA CITADA

- Afshar, R., Lin, R., Mohammed, Y. A., & Chen, C. (2018). Agronomic effects of urease and nitrification inhibitors on ammonia volatilization and nitrogen utilization in a dryland farming system: Field and laboratory investigation. *Journal of Cleaner Production*, 172, 4130 – 4139. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.01.105>
- Arcila, J. (2007). Crecimiento y desarrollo de la planta de café. En J. Arcila, F. Farfán, A. Moreno, L. Salazar, & E. Hincapié (Eds.), *Sistemas de producción de café en Colombia: crecimiento, desarrollo, floración y producción*. (1ra ed., pp. 21-60). Cenicafé. <http://hdl.handle.net/10778/720>
- Arias-Suarez, E., & Sadeghian, S. (2018). Lixiviación de potasio en suelos de la zona cafetera y su relación con la textura. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 16 (1). 34–42. <https://doi.org/10.18684/10.18684/bsaa.v16n1.632>
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2013). *Manual del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura* (Vol. 3). Cenicafé.
- Ghiberto, P. J., Libardi, P. L., Brito, A. S., & Trivelin, P. C. O. (2009). Leaching of nutrients from a sugarcane crop growing on an Ultisol in Brazil. *Agricultural Water Management*, 96(10), 1443-1448. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2009.04.020>
- Georgiadis, P., Taeroe, A., Stupak, I., Kepfer-Rojas, S., Zhang, W., Pinheiro-Bastos, R., & Raulund-Rasmussen, K. (2017). Fertilization effects on biomass production, nutrient leaching and budgets in four stand development stages of short rotation forest poplar. *Forest Ecology*

- and Management, 397, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.04.020>
- González, H., & Sadeghian, S. (2012). Lixiviación de nitrógeno en suelos de la zona cafetera a partir de diferentes fuentes fertilizantes. *Revista Cenicafé*, 63(1), 111-119. <http://hdl.handle.net/10778/516>
- González, H., Sadeghian, S., & Jaramillo, A. (2014). Épocas recomendables para la fertilización de cafetales. *Avances Técnicos Cenicafé*, 442, 1-12. <http://hdl.handle.net/10778/498>
- González, H., Sadeghian, S., Castro, A. F., & Medina, R. D. (2015). Alternativas para disminuir la volatilización de nitrógeno producida por la fertilización con urea. *Revista Cenicafé*, 66(1), 7-16. <http://hdl.handle.net/10778/604>
- Hansen, E. M., & Eriksen, J. (2016). Nitrate leaching in maize after cultivation of differently managed grass-clover leys on coarse sand in Denmark. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 216, 309-313. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.10.010>
- Ierna, A., & Mauromicale, G. (2018). Potato growth, yield and water productivity response to different irrigation and fertilization regimes. *Agricultural Water Management*, 201, 21-26. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.01.008>
- Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios Ambientales – IDEAM. (2011). El fenómeno de “La Niña” presenta su etapa de madurez; algunos modelos y análisis realizados por el IDEAM indican una Niña fuerte. *Boletín Informativo*, 22, 1-7.
- Liu, S., Wang, J. J., Tian, Z., Wang, X., & Harrison, S. (2017). Ammonia and greenhouse gas emissions from a subtropical wheat field under different nitrogen fertilization strategies. *Journal of Environmental Sciences*, 57, 196-210. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.02.014>
- Lu, J., Bai, Z., Velthof, G.L., Wu, Z., Chadwick, D., & Ma, L. (2019). Accumulation and leaching of nitrate in soils in wheat-maize production in China. *Agricultural Water Management*, 212, 407-415. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.08.039>
- Maresca, A., Krüger, O., Herzal, H., Adam, C., Kalbe, U., & Astrup, T. F. (2019). Influence of wood ash pre-treatment on leaching behaviour, liming and fertilising potential. *Waste Management*, 83, 113-122. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.11.003>
- McArthur, J. W., & McCord, G. C. (2017). Fertilizing growth: Agricultural inputs and their effects in economic development. *Journal of Development Economics*, 127, 133-152. <https://doi.org/10.1016/j.jdeveco.2017.02.007>
- Meriguetti, V., Pereira, I., Lier, Q., Dourado-Neto, D., & Reichard, K. (2017). Environmental benefits of reducing N rates for coffee in the Cerrado. *Soil & Tillage Research*, 166, 76-83. <https://doi.org/10.1016/j.still.2016.10.006>
- Mestre, A., & Uribe, A. (1980). Dosis y frecuencia de aplicación del fertilizante en la producción de café. *Revista Cenicafé*, 31(4), 145-163. <http://hdl.handle.net/10778/684>
- Niemiec, M., Cupiał, M., & Szeląg-Sikora, A. (2015). Efficiency of cereal fertilization with phosphorus and potassium under conditions of integrated plant production. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 7, 184-191. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2015.12.015>
- Sadeghian, S., Hernández, E., & González, H. (2007). Mezcla de fertilizantes en la finca, una buena opción para el caficultor. *Avances Técnicos Cenicafé*, 362, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/363>
- Sadeghian, S. (2008). Fertilidad del suelo y nutrición del café en Colombia: Guía Práctica. *Boletín Técnico Cenicafé*, 32, 1-43. <http://hdl.handle.net/10778/587>
- Sadeghian, S., & González, H. (2012). Alternativas generales de fertilización para cafetales en la etapa de producción. *Avances Técnicos Cenicafé*, 424, 1-8. [hdl.handle.net/10778/1107](http://hdl.handle.net/10778/1107)
- Sadeghian, S., Mejía, B., & González, H. (2013). Acumulación de calcio magnesio y azufre en los frutos de café. *Avances Técnicos Cenicafé*, 430, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/408>
- Sadeghian, S., González, H., & Arias, E. (2015). Lixiviación de nutrientes en suelos de la zona cafetera: Prácticas que ayudan a reducirla. *Boletín Técnico Cenicafé*, 40, 1-34. <http://hdl.handle.net/10778/1110>
- Sowiński, J., & Głęb, L. (2018). The effect of nitrogen fertilization management on yield and nitrate contents in sorghum biomass and bagasse. *Field Crops Research*, 227, 132-143. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.08.006>
- Tian, X., Li, C., Zhang, M., Li, T., Lu, Y., & Liu, L. (2018). Controlled release urea improved crop yields and mitigated nitrate leaching under cotton-garlic intercropping system in a 4-year field trial. *Soil and Tillage Research*, 175, 158-167. <https://doi.org/10.1016/j.still.2017.08.015>
- Tully, K. L., Lawrence, D., & Scanlon, T. M. (2012). More trees less loss: Nitrogen leaching losses decrease with increasing biomass in coffee agroforests. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 161, 137-144. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2012.08.002>

# RESISTENCIA GENÉTICA A LA ENFERMEDAD DE LA CEREZA DEL CAFÉ EN VARIEDADES CULTIVADAS EN COLOMBIA

[Carlos Ernesto Maldonado Londoño](#) \*, [Lucía Ángel Giraldo](#) \*\*, [Claudia Patricia Flórez Ramos](#) \*\*\*

Maldonado, C. E., Ángel-Giraldo, L., & Flórez, C. P. (2020). Resistencia genética a la Enfermedad de la Cereza del Café en variedades cultivadas en Colombia. *Revista Cenicafé*, 71(1), 68-90. <https://doi.org/10.38141/10778/1121>

La enfermedad de las cerezas del café (CBD), antracnosis causada por el hongo *Colletotrichum kahawae* subsp. *kahawae*, ha sido registrada solo en África y puede ocasionar pérdidas de producción hasta del 80%. Cenicafé desarrolla variedades resistentes a las enfermedades más limitantes para el cultivo, aún en ausencia de los patógenos en Colombia, usando al Híbrido de Timor (HT) como la principal fuente de resistencia a la roya del café y a CBD. El propósito de este estudio fue conocer la presencia del gen *Ck-1* de resistencia a CBD en las principales variedades de café cultivadas en Colombia, establecer la correlación entre la presencia de *Ck-1* y la respuesta a inoculación de hipocótilos y explorar las bases genómicas de la resistencia. Los marcadores moleculares ligados a *Ck-1* se ubicaron en el cromosoma 1 de *Coffea canephora*, región genómica con quince genes de resistencia a enfermedades. Se encontraron marcadores para *Ck-1* en todas las líneas mejoradas derivadas del HT-1343 y ausentes en las variedades Típica, Borbón y Caturra, y en líneas derivadas del HT-832/1. No hubo correlación entre las formas alélicas de resistencia a CBD y la resistencia medida por inoculación de hipocótilos. La alta frecuencia de formas alélicas asociadas con resistencia a CBD en materiales seleccionados por resistencia a roya sugiere cosegregación de genes de resistencia para ambas enfermedades. La estrategia de variedades multilínea desarrolladas por Cenicafé, que actualmente corresponde a cerca del 80% del café sembrado en el país, hace que la población en general esté protegida ante la eventual llegada del patógeno a Colombia.

**Palabras clave:** *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, *Colletotrichum kahawae* subsp. *kahawae*, genes de resistencia a enfermedades, marcadores moleculares, genómica comparativa.

## GENETIC RESISTANCE TO COFFEE BERRY DISEASE ON COFFEE VARIETIES CULTIVATED IN COLOMBIA

Coffee Berry disease (CDB), an anthracnose caused by the fungus *Colletotrichum kahawae* subsp. *kahawae*, has been registered only in Africa and it can cause up to 80% of crop losses. Cenicafé works on the development of varieties resistant to the main coffee diseases, even in absence of the pathogens in Colombia; such studies use Timor Hybrid (HT) as the main source of resistance against coffee leaf rust (CLR) and CBD. The objective of this study was to screen the presence of the *Ck-1* gene, resistant to CBD, on the main coffee varieties cultivated in Colombia in order to establish the correlation between the presence of *Ck-1* and the response to hypocotyl inoculation, and to explore the genomic basis of the resistance. Molecular markers linked to *Ck-1* were located at the *Coffea canephora* chromosome 1, a genomic region with fifteen disease resistance genes. Markers for *Ck-1* were found in all the breeding lines derived from TH-1343 and absent in Typica, Bourbon, and Caturra varieties and in lines derived from TH-832/1. There was no correlation between the allelic forms of CBD resistance and the resistance of the genotype measured by the hypocotyl inoculation test. The high frequency of allelic forms associated with CDB resistance in materials selected mainly for CLR resistance suggests co-segregation of resistance genes for both diseases. The strategy of multi-line varieties developed by Cenicafé, which currently corresponds to 80% of the coffee planted in Colombia, protects the crop population against the eventual arrival of the pathogen in Colombia.

**Keywords:** *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, *Colletotrichum kahawae* subsp. *kahawae*, disease resistance genes, molecular markers, comparative genomics.

\* Investigador Científico I. Disciplina de Mejoramiento Genético, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-9433-6979>.

\*\* Asistente de Investigación. Disciplina de Mejoramiento Genético, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-6403-4977>.

\*\*\* Investigador Científico III. Disciplina de Mejoramiento Genético, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia. <https://orcid.org/0000-0003-2859-3496>.



La enfermedad de las cerezas del café o CBD (sigla en inglés para *Coffee Berry Disease*), es una de las enfermedades más limitantes de la producción de café en África. Su agente causal, el hongo *Colletotrichum kahawae* subsp. *kahawae* J.M. Waller & Bridge., produce una antracnosis en flores, frutos en cualquier estado de desarrollo y ocasionalmente hojas (Silva et al., 2006). El daño principal ocurre cuando infecta frutos verdes, produciendo lesiones hundidas, que causan momificación y caída de frutos (Silva et al., 2006) (Figura 1). La enfermedad puede causar pérdidas de producción hasta del 80%, si no es controlada químicamente (Griffiths et al., 1971). Aunque el CBD no se ha registrado en América, de acuerdo a la descripción de las condiciones ambientales de regiones cafeteras afectadas por la enfermedad en África (Van der Vossen & Walyaro, 2009; Mugo et al., 2012), la zona cafetera colombiana presenta condiciones climáticas favorables para el desarrollo del hongo.

Cenicafé, desde la década de 1970, desarrolla un programa de selección por resistencia a

CBD en ausencia del patógeno, utilizando como fuentes de resistencia el Híbrido de Timor (HT) y Rume Sudan, cruzándolas con la variedad Caturra. El HT es producto de un cruzamiento interespecífico natural entre *C. arabica* y *C. canephora*, y presenta regiones de introgresión que le han conferido resistencia a la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*), a CBD, *Pseudomonas syringae* y al nematodo *Meloidogyne exigua* (Clarindo et al., 2013). Cruzamientos entre *C. arabica* var. Caturra y el HT-1343 fueron la base para la selección por resistencia a la roya en el que se obtuvieron las variedades compuestas o multilínea de porte bajo tales como, Colombia (Castillo y Moreno, 1988), Castillo® con sus siete componentes regionales (Alvarado et al., 2005a; Alvarado et al., 2005b; Alvarado et al., 2005c; Alvarado et al., 2005d; Alvarado et al., 2006a; Alvarado et al., 2006b; Alvarado et al., 2006c; Posada et al., 2006), Cenicafé 1 (Flórez et al., 2016) y Castillo® Zonales (Flórez et al., 2018). Dos introducciones del HT, 1343 y 832/1, se usaron como fuente de resistencia a la roya en la variedad de porte alto Tabi. La estrategia utilizada por Cenicafé



**Figura 1.** Síntomas de la enfermedad de las cerezas del café–CBD. a. Estados iniciales de infección en frutos en desarrollo (Phiri, 2018); b. Estado avanzado de la enfermedad, frutos momificados (Alworah, 2019).

para una resistencia durable a la roya se basó en variedades multilínea, donde la diferente distribución de genes de resistencia en cada una de las líneas permitió una diversidad genética dentro del lote, reduciendo la posibilidad de establecimiento de una raza del patógeno capaz de superar la resistencia genética, contrario a lo que ha ocurrido con variedades de café con uniformidad genética o monolíneas.

En ausencia de *C. kahawae* subsp. *kahawae* en Colombia se implementó una estrategia de pre-selección de materiales por resistencia a CBD, mediante pruebas de infectividad de hipocótilos, realizadas en los laboratorios del Centro de Investigaciones de la Roya del Café (CIFC) en Portugal. Entre 1997 y el 2015 se realizaron cerca de 6.800 pruebas de inoculación, evaluando cerca de 600 materiales mejorados y otros componentes de la Colección Colombiana de Café (Documento interno Programa de Mejoramiento Genético - Cenicafé).

La selección definitiva de materiales resistentes a enfermedades debe desarrollarse en condiciones de campo, en presencia del patógeno. En Kenia fue producida la variedad Ruiru 11, de porte bajo, resistente a la roya y al CBD (Gichuru, 2007; Omondi et al., 2001), siendo el progenitor que aporta estas características un material desarrollado por Cenicafé (derivado del HT-1343), enviado a Kenia en la década de 1970, para probar su resistencia a la roya. El mismo progenitor ha sido utilizado en programas de mejoramiento del café en Kenia, Tanzania y Zambia (Mtenga et al., 2007; Kilambo et al., 2013a y 2013b; Gichuru, 2007; Omondi et al., 2001; Silva et al., 2006).

La genética de la resistencia a CBD es controversial, para algunos autores la resistencia es oligogénica y para otros poligénica. Van der Vossen y Walyaro (1980, 2009) proponen

que la resistencia puede explicarse por genes de efecto mayor en tres loci diferentes: el gen dominante *T* presente en el HT, el gen *R* de acción dominante presente en las variedades Rume Sudan y Pretoria, y el gen recesivo *k* que se encuentra en Rume Sudan, K-7 y Pretoria, pero dado el carácter cuantitativo de la resistencia puede haber más genes involucrados (Van der Graaff, 1981).

Hasta el momento solo se ha mapeado un gen de resistencia a CBD y no se conoce la secuencia del gen responsable. Gichuru y colaboradores (2008) evaluaron poblaciones segregantes derivadas del cruzamiento Catimor 88 x SL28 en campos de cultivo con presencia natural del patógeno. El primer progenitor es una línea resistente portadora del locus *T* que fue desarrollada en Cenicafé (derivada de HT-1343). Los autores encontraron un grupo de ligamiento conformado por ocho marcadores AFLP y dos microsatélites (SSR) fuertemente asociados con el fenotipo resistente a CBD, que contiene el gen principal de resistencia al que llamaron *Ck-1*. El marcador SSR SAT235 es el más cercano al gen *Ck-1*, ha sido validado en el campo en presencia del patógeno (Gichimu et al., 2014) y usado en selección asistida por marcadores moleculares (SAM) como medida indirecta de la resistencia a CBD (Alkimim et al., 2017).

Contar con marcadores moleculares validados es de gran ayuda para utilizar SAM para la selección de progenies en etapas tempranas de mejoramiento o en progenies avanzadas. Los marcadores de ADN presentan ventajas para la detección del rasgo de interés al no ser afectados por el ambiente, en corto tiempo pueden evaluarse tantos rasgos como marcadores se tengan, sin esperar a la expresión directa del rasgo en un punto fenológico específico de la planta. En un cultivo perenne como el café, el desarrollo de una variedad puede tardar en promedio 25

años y los marcadores moleculares aplicados en SAM son una herramienta para acelerar el proceso de selección.

El propósito de este estudio fue conocer la presencia del gen *Ck-1* de resistencia a CBD en las principales variedades de café cultivadas en Colombia, establecer la correlación entre la presencia de *Ck-1* y la respuesta a inoculación de hipocótilos, y explorar las bases genómicas de la resistencia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal.** Se analizaron tres progenitores, en generación F4 en su mayoría, de los componentes de las variedades multilínea Colombia, Tabi, Castillo® y sus regionales, Cenicafé-1, Castillo® Zonales, además de las variedades tradicionales Típica, Borbón y Caturra, estas últimas susceptibles a la roya del café. También se incluyeron las variedades monolínea Costa Rica 95 y Catimor, desarrolladas en Centro América para resistencia a la roya y que son cultivadas en baja proporción en Colombia. Se utilizaron como control resistente a CBD accesiones del HT-1343 que dieron origen a las variedades desarrolladas por Cenicafé y Caturra como control susceptible. Se recolectaron hojas en crecimiento activo, que correspondían al primer o segundo par de hojas del tercio medio o superior del árbol. Los materiales de estudio son conservados en la Estación Experimental Naranjal de Cenicafé, ubicada en el municipio de Chinchiná (Caldas, Colombia). También se recolectó tejido de cuatro plantas de Catimor, en un cultivo comercial en el Departamento de Risaralda.

**Extracción DNA.** El tejido foliar se congeló a -80°C y se deshidrató al vacío en un liofilizador (Labconco, FreeZone 6 L). El material deshidratado se maceró hasta obtener un polvo fino y el ADN se extrajo

por el método de CTAB modificado para café, así: cerca de 80 mg de tejido foliar deshidratado y macerado se suspendió en 500 µL de buffer CTAB 2X precalentado a 65°C (CTAB 2% P/V, Tris 0,1 M, EDTA 0,02 M, NaCl 8,2% P/V, polivinilpirrolidona 2% P/V y B-mercaptoetanol 1,5% V/V). La muestra se incubó a 65°C durante 30 minutos, agitando regularmente. Posteriormente se añadió un volumen de cloroformo:alcohol-isoamílico (24:1) y se recuperó la fase acuosa después de centrifugar la mezcla a 4°C, durante 15 minutos a 14.000 rpm. El ADN se precipitó llevando la solución a una concentración 0,18 M de acetato de sodio y 0,7 M de NaCl y adicionando un volumen de alcohol isopropílico. El precipitado se lavó con etanol al 70% y se resuspendió en 100 µL de agua ultrapura, a la cual se adicionaron 2,5 µg RNasa-A y se incubó a 37°C por 30 minutos, seguido de una nueva precipitación. Las muestras se dejaron en resuspensión a 4°C durante 48 h. La cantidad y calidad del ADN extraído se evaluó por medio de electroforesis cuantitativa en geles de agarosa al 1,2% en buffer TAE, con el uso de la escalera de peso molecular *Low Mass Ladder* (Invitrogen) y por espectrofotometría en un NanoDrop 2 (Thermo-Fisher) con al menos dos repeticiones por muestra.

**Amplificación y evaluación de marcadores moleculares.** Se genotipificó un subgrupo de los materiales de estudio mediante la amplificación por PCR de los marcadores microsatélite SAT207, FR34-6CTG y SAT235. El marcador FR34-6CTG amplifica el mismo locus que SAT207 produciendo amplicones de menor tamaño y fue reportado por Guzmán y Moncada (2012). Las secuencias de los oligonucleótidos cebadores se presentan en la Tabla 1. La mezcla de PCR contenía 80 ng de ADN, 0,5 µM de cada cebador, 0,125 mM de cada dNTP, buffer de PCR 1X, 1,5 mM de MgCl y una unidad de Taq polimerasa en un volumen de 25 µL. Las condiciones

del programa de PCR fueron iguales a las publicadas por Guzmán y Moncada (2012), empleando el método “touchdown PCR”: 94°C por 5 min, seguido de cinco ciclos con alineamiento de cebadores de 1 min, bajando 1°C en cada ciclo, desde 60°C a 55°C, con un paso previo de denaturación de 94°C de 1 min y uno posterior de extensión de 72°C por 1 min. Se continuó con 35 ciclos de 94°C por 1 min, 55°C por 1 min, 72°C por 1 min y finalizando con 72°C por 5 min. Los fragmentos amplificados se corrieron en geles verticales desnaturalizantes de poliacrilamida al 6%, 7 M de urea y TBE 0,7 X y se tiñeron con nitrato de plata. El subgrupo fue usado para el desarrollo de pruebas preliminares y se continuó la evaluación del total de las muestras con los marcadores SAT235 y FR34-6CTG.

**Análisis bioinformático.** Por medio de PCR electrónica (ePCR) (Schuler, 1997) sobre el genoma de *C. canephora* (Denoeud et al., 2014) se determinó *in silico* el número de copias, la posición genómica y las formas de los alelos amplificados. Adicionalmente, se buscaron genes de resistencia en la región mapeada al integrar el grupo de ligamiento que contiene el gen *Ck-1* (Gichuru et al., 2008) y el genoma de *C. canephora* (Denoeud et al., 2014) con el archivo de anotación disponible en la base de datos *Coffee Genome Hub* (<http://coffee-genome.org/>) creada por el Instituto

Nacional Francés de Investigaciones para el Desarrollo – IRD y el Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agronómica de Francia – CIRAD.

**Relación fenotipo y genotipo.** Se reunió la información de las pruebas de infectividad llevadas a cabo en la CIFIC entre 1997 y 2015. Se encontraron registros de cerca de 6.800 pruebas de inoculación, evaluando alrededor de 600 materiales mejorados y otros componentes de la Colección Colombiana de Café, con 12 aislamientos de *C. kahawae* subsp. *kahawae* (Documento interno Programa de Mejoramiento Genético – Cenicafé, consolidando información de investigaciones lideradas por Germán Moreno y Pilar Moncada). Se analizaron nueve aislamientos probados en al menos cinco componentes de la variedad Castillo®. Los aislamientos incluidos provenían de Camerún (aislamientos C y CA), Mozambique (M), Kenia (Q, Q2), Zimbabue (Z, Z1 y Z9) y un aislamiento de Ruanda (R). La evaluación de infectividad se realizó mediante el método de Cook y Van der Vossen (1973) modificado por Van der Graff (1981), donde 100 semillas de una misma planta se sembraron en arena estéril, cuando las plántulas iniciaron la apertura de hojas cotiledonares se inocularon con una suspensión de  $2 \times 10^6$  conidias/mL y se mantuvieron bajo una humedad relativa del 100%, pasadas 48 horas se repitió la inoculación y se dejaron 48 horas más, en un ambiente

**Tabla 1.** Secuencia de los cebadores de los marcadores moleculares tipo microsatélite (SSR) asociados con el gen *Ck-1* de resistencia a CBD proveniente del Híbrido de Timor.

Primer ID	Primer-F 5'-3'	Primer-R 5'-3'	Referencia
SAT207	GAAGCCGTTTCAAGCC	CAATCTCTTCCGATGCTCT	Gichuru et al., 2008
FR34-6CTG	AAGCCGTTTCAAGCCATA	GCTTCTGTCTCAACACAACA	Guzman y Moncada, 2012
SAT235	TCGTTCTGTCATTAATCGTCAA	GCAAATCATGAAAATAGTTGGTG	Gichuru et al., 2008



con humedad relativa del 100%. Después de tres semanas se evaluó la infección usando en una escala de cuatro niveles. Se consideró que un material era resistente si el 50% o más de los individuos evaluados se encontraban en los niveles 1 y 2 que corresponden a los de menor daño por el patógeno, o eran susceptibles si el 50% o más de los individuos mostraban daños con nivel 3 o 4. Para cada marcador molecular y aislamiento se construyó una matriz de contingencia para análisis de correlación de datos binarios (presencia ausencia del marcador y de la resistencia) mediante la prueba de correlación Phi.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Pruebas de amplificación de los microsatélites y análisis bioinformático

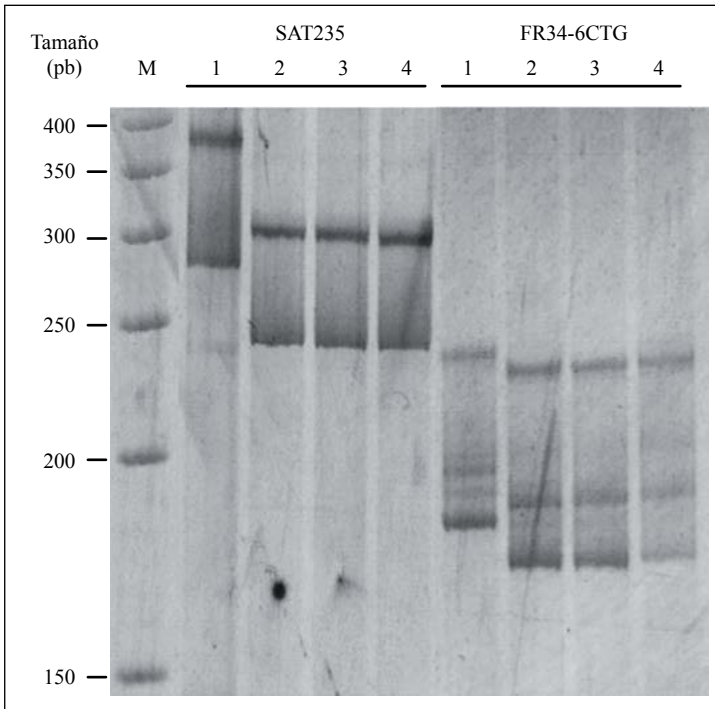
Las evaluaciones de los marcadores SAT207 y FR34-6CTG, considerados idénticos por Guzmán y Moncada (2012), mostraron diferencias en el tamaño y número de bandas de los amplicones. Aunque ambos marcadores amplifican parte de un mismo locus, el tamaño de los fragmentos amplificados para del marcador FR34-6CTG y las diferencias entre sus formas alélicas facilitaron su evaluación. La ePCR sobre el genoma de *C. canephora* (Denoëud et al., 2014) mostró que el sitio de inicio de la amplificación tuvo una diferencia

de una base y se presentó una diferencia de tamaño de 86 pb entre ambos marcadores (Tabla 2). El tamaño de los amplicones obtenidos por ePCR fue comparable a los tamaños observados mediante electroforesis en geles de acrilamida (Figura 2). Las diferencias de tamaño entre las formas alélicas asociadas con resistencia y susceptibilidad del marcador SAT235 permitieron que los amplicones pudieran ser evaluados mediante electroforesis en geles de agarosa, agilizando la genotipificación de los materiales y haciendo de este marcador una buena herramienta para SAM, siendo además este marcador el más cercano al gen *Ck-1* (Gichuru et al., 2008).

De acuerdo con los resultados de mapeo publicados por Gichuru et al. (2008), el gen *Ck-1* está asociado con los marcadores SSR SAT207 y SAT235, que están separados por 17,2 cM. Al integrar el grupo de ligamiento con el genoma de *C. canephora*, mediante ePCR, estos microsatélites se encuentran en el cromosoma 1, a una distancia física de 6.296.765 pb (Tabla 2, Figura 3). La región con mayor probabilidad de contener el gen *Ck-1* cubre 11 cM e incluye el marcador SAT235 y cinco marcadores AFLP. Los marcadores dominantes, como los AFLP, no permiten ser ubicados sobre la secuencia genómica con la misma precisión que se logra con marcadores codominantes como los microsatélites.

**Tabla 2.** Ubicación de los marcadores asociados con el gen *Ck-1* amplificados sobre la secuencia genómica de *Coffea canephora* y producto amplificado mediante PCR electrónica.

Marcador	Cromosoma	Cadena	Inicio	Final	Amplicon (pb)
FR34-6CTG	Chr1	+	29.996.789	29.996.964	176
SAT207	Chr1	+	29.996.788	29.996.877	90
SAT235	Chr1	-	23.700.199	23.700.420	222



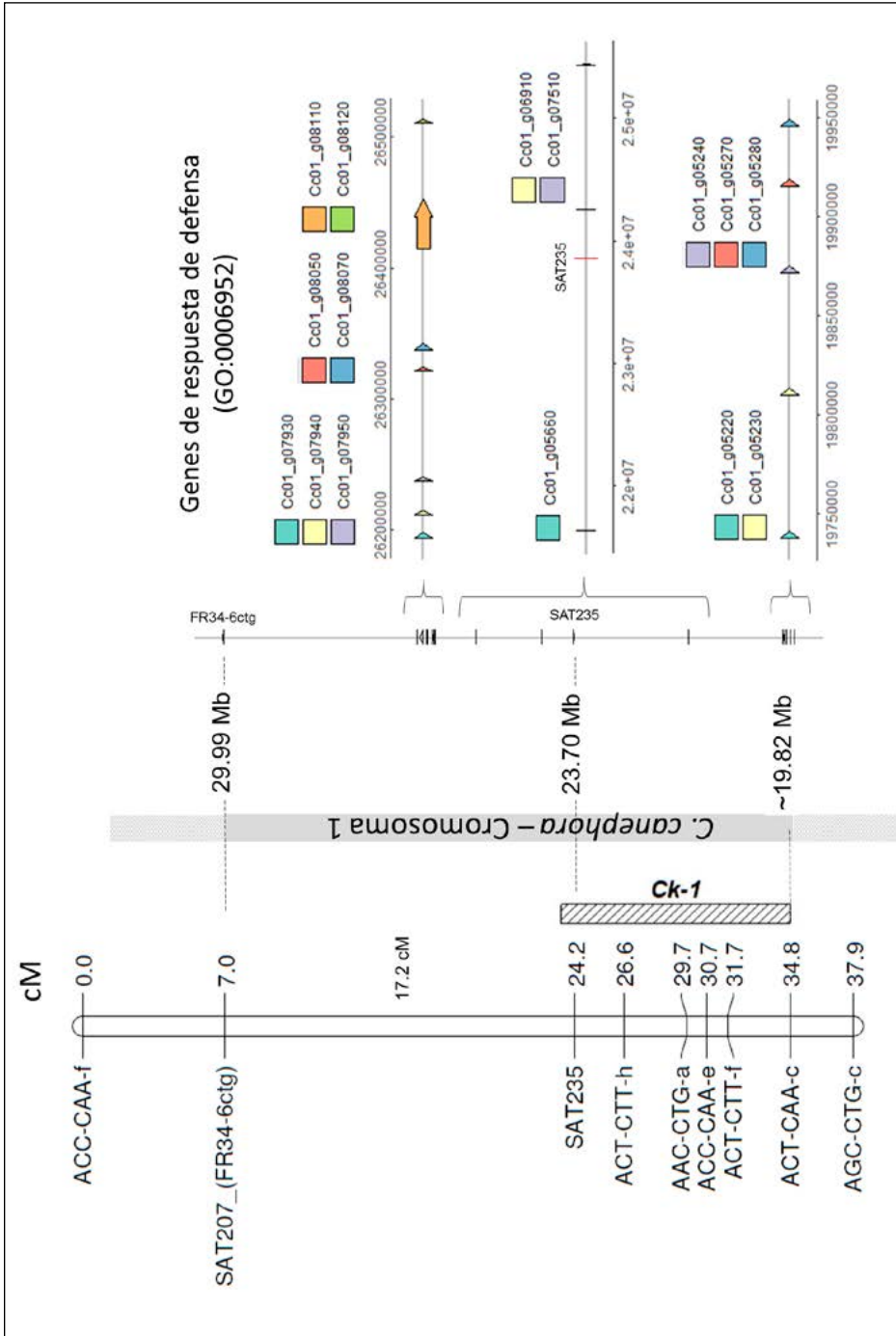
**Figura 2.** Electroforesis en geles de poliacrilamida al 6% de los marcadores moleculares asociados con resistencia genética a la enfermedad de las cerezas del café – CBD. Carriles: M) escalera de DNA de 50 pb, 1) variedad Caturra (control susceptible), 2) HT-1343-CV1, 3) HT-1343-CV2 (control resistente), 4) Línea componente de la variedad Castillo®.

Con el propósito de determinar las coordenadas genómicas en la región que contiene el gen *Ck-1*, el cual se extiende corriente abajo del marcador SAT235, y al no contar con distancias físicas conocidas para los marcadores del grupo de ligamiento en esta región, se asumió una improbable relación lineal entre la distancia genética en cM y la distancia física de los SSRs, donde 1 cM corresponde a 366 Kb y los 10,6 cM a partir de SAT235 comprenderían la región de mayor asociación con el gen *Ck-1* hasta la posición 19,82 Mb del cromosoma 1 de *C. canephora* (Figura 3).

Entre las coordenadas 29,99 Mb y 19,73 Mb del cromosoma 1 de *C. canephora* se encuentran 612 genes, de acuerdo a los archivos de anotación del genoma (Denoëud et al., 2014). Dentro de ellos se encontraron 15 genes de respuesta de defensa (Tabla 3), con

término de ontología GO:0006952 (Ashburner et al., 2000; Gene Ontology Consortium, 2019). Estos genes de defensa se encontraron agrupados en dos áreas particulares y tres genes distanciados entre 1,7 y 2,6 Mb (Figura 3). Sobre la región más estrechamente asociada con el gen *Ck-1* se encuentran los genes Cc01\_g05220, Cc01\_g05230, Cc01\_g05240, Cc01\_g05270 y Cc01\_g05280 ubicados en un grupo de 211,46 Kb, y dos genes apartados Cc01\_g05660 y Cc01\_g06910, siendo este último el más cercano al marcador SAT235 (Tabla 3, Figura 3).

La información de posición genómica de los marcadores en *C. canephora* concuerda con el mapa genético de *C. arabica* (Moncada et al., 2016) donde el marcador CMA276 (sinónimo de SAT235) se encuentra en el grupo de ligamiento siete. Los análisis de integración entre el mapa genético de *C. arabica*,



**Figura 3.** Integración entre el grupo de ligamiento asociado al gen *Ck-1* de resistencia a CBD y el genoma de *Coffea canephora*. A la izquierda grupo de ligamiento que contienen el gen *Ck-1*, adaptado de Guchuru y colaboradores (2008). Ubicación de genes de respuesta de defensa con término de ontología GO:0006952.

**Tabla 3.** Genes de resistencia a enfermedades en la región asociada al gen *Ck-1* de resistencia al CBD en el genoma de *Coffea canephora*. Información extraída del archivo de anotación disponible en el Coffee Genome Hub (<http://coffee-genome.org/>).

Nombre del gen	Anotación funcional putativa
Cc01_g05220	Proteína de resistencia a enfermedades RGA3
Cc01_g05230	Proteína de resistencia a enfermedades RGA3
Cc01_g05240	Proteína de resistencia a enfermedades RGA3
Cc01_g05270	Proteína de resistencia a enfermedades RGA2
Cc01_g05280	Proteína de resistencia a enfermedades RGA2
Cc01_g05660	Proteína de resistencia a enfermedades RGA1
Cc01_g06910	Probable proteína de resistencia a enfermedades At5g63020
Cc01_g07510	Proteína de resistencia a tizón tardío R1-A
Cc01_g07930	Proteína de resistencia a tizón tardío homólogo R1B-14
Cc01_g07940	Proteína de resistencia a tizón tardío homólogo R1B-23
Cc01_g07950	Proteína de resistencia a tizón tardío homólogo R1B-14
Cc01_g08050	Proteína de resistencia a tizón tardío homólogo R1A-6
Cc01_g08070	Proteína de resistencia a enfermedades (clase CC-NBS-LRR)
Cc01_g08110	Proteína de resistencia a tizón tardío homólogo R1B-14
Cc01_g08120	Proteína de resistencia a tizón tardío homólogo R1B-14

al genoma de *C. canephora*, *C. arabica* y *C. eugenioides* aportarán información para estudios de genómica funcional del género y asociación con rasgos de interés, incluyendo resistencia a enfermedades.

La minería de datos en la región asociada al gen *Ck-1* indica la probable presencia de uno o dos grupos de genes de resistencia en el bloque introgresado al HT desde *C. canephora*, un caso similar se registró para el gen SH3 de resistencia a la roya del café en una región de introgresión proveniente de *C. liberica* (Lashermes et al., 2010). El agrupamiento

de genes de resistencia es común dentro de especies vegetales y han sido reportados en los genomas de arroz, alfalfa, uva y álamo, entre otros (Zhou et al., 2004; Yang et al., 2008). Para delimitar el gen de efecto mayor o aquellos responsables de la resistencia a CBD, si es de naturaleza oligogénica como escenarios posibles de la resistencia (Gichuru et al., 2008), debe saturarse de marcadores moleculares la región de interés y hacer mapeo fino con una población segregante de un alto número de individuos y en presencia de *C. kahawae* subsp. *kahawae* y *H. vastatrix*; así la genotipificación de la población segregante y

su integración con la secuencia genómica de los progenitores de dicha población, sumado a evaluaciones de genes expresados durante procesos infectivos del patógeno en los progenitores y en individuos seleccionados dentro de la población segregante, permitiría acercarse a los genes candidatos de la resistencia y ser validados por métodos de genética reversa.

### **Amplificación de los marcadores asociados con resistencia a CBD en variedades de café cultivadas en Colombia**

Como resultado de análisis anteriormente descritos se decidió continuar la evaluación sobre los sujetos de estudio con los marcadores FR34-6CTG y SAT235, dando mayor peso a los resultados obtenidos para el marcador SAT235, el más cercano al gen de interés en este estudio (Gichuru et al., 2008).

Los resultados de la amplificación de marcadores moleculares muestran ausencia del bloque de introgresión que contiene el gen *Ck-1* en las variedades tradicionales susceptibles a CBD: Caturra, Típica y Borbón, y en las variedades provenientes de Centro América: Costa Rica 95 y Catimor. Se encontró variabilidad dentro de los HT evaluados, como fue publicado también por Guzmán y Moncada (2012). En el HT-1343, progenitor de las variedades Colombia, Castillo® y Cenicafé 1, y del 82,6% de las líneas de la variedad Tabi, se encontraron las formas alélicas de resistencia de los marcadores evaluados, mientras que en el caso del HT 832/1, progenitor de cuatro de los componentes de Tabi, Costa Rica 95 y probablemente del Catimor incluido en el análisis, el bloque de introgresión está ausente, sugiriendo susceptibilidad a CBD en las variedades de Centro América y en el 17,4% de los componentes de Tabi (Tablas 4 y 11). Para esta última variedad el porcentaje de líneas con progenies susceptibles a CBD es mayor, como se describe más adelante.

**Tabla 4.** Evaluación de los marcadores asociados con el gen de resistencia *Ck-1* en variedades tradicionales<sup>1</sup>, progenitores de las variedades<sup>2</sup>, Costa Rica 95 y Catimor. La calificación binaria 1 indica la presencia de la forma alélica asociada con resistencia en forma homocigótica, 0 homocigoto para alelo asociado con susceptibilidad y 1/0 la presencia simultánea de las formas alélicas asociadas a resistencia y susceptibilidad (heterocigotos).

<b>Accesión</b>	<b>SAT235</b>	<b>FR34.6CTG</b>
Caturra <sup>1, 2</sup>	0	0
Typica <sup>1</sup>	0	0
Borbon <sup>1</sup>	0	0
Costa Rica 95	0	0
Catimor	0	0
HT-1343-CV1 <sub>2</sub>	1	1
HT-1343-CV2 <sub>2</sub>	1	1
HT-832/1 <sub>2</sub>	0	0

Las líneas componentes de las variedades multilínea evaluadas, corresponden a generaciones F4 y F5, siendo estos los progenitores de las plantas de los lotes de producción de semilla certificada, de tal manera que se entrega a los caficultores semilla de generación F6 y una baja proporción de F7. De esta forma, una porción reducida de la progenie derivada de las líneas evaluadas será susceptible al CBD, por ausencia del gen de resistencia *Ck-1* (Tablas 11 y 12).

Todos los progenitores de las líneas componentes de la variedad Colombia presentaron la forma alélica de resistencia del marcador SAT235, tres de ellos en forma heterocigótica. Dos plantas presentaron ausencia del marcador FR34-6CTG y una de ellas con SAT235 heterocigótico. Lo que indica que el 8,8% de los progenitores producirían una fracción de su descendencia sin el gen *Ck-1*, donde el 96,7% de las semillas entregadas al agricultor serían resistentes, si existe en la mezcla igual proporción de cada componente

varietal de la multilínea. Los detalles de la composición y presencia de marcadores para la variedad Colombia se presentan en las Tablas 5 y 11.

Dentro de las líneas componentes de la variedad Tabi, el 26% presentaron ausencia del bloque de introgresión que contiene el gen *Ck-1* al presentar en forma homocigótica las formas alélicas asociadas con susceptibilidad a CBD para ambos SRRs evaluados. Cuatro

componentes más (17,4%) fueron homocigóticos para la forma susceptible del marcador (Tabla 6). El 73,9% de la semilla certificada de esta variedad sería resistente a CBD si hay igual proporción de cada componente varietal de la multilínea (Tabla 11).

Todos los componentes de la variedad Castillo® General y las siete Variedades Castillo® Regionales presentaron al menos un alelo de resistencia para SAT235. FR34-

**Tabla 5.** Evaluación de los marcadores moleculares asociados con el gen de resistencia *Ck-1* en los componentes de la variedad Colombia. La calificación binaria 1 indica la presencia de la forma alélica asociada con resistencia en forma homocigótica, 0 homocigoto para alelo asociado con susceptibilidad y 1/0 la presencia simultánea de las formas alélicas asociadas a resistencia y susceptibilidad (heterocigotos).

Línea	SAT235	FR34-6CTG	Línea	SAT235	FR34-6CTG
BH.1247	1	1	CU.1991	1	1
BH.1409	1/0	1	CU.1993	1	1
CU.1778	1	1	CU.2021	1	1
CU.1812	1	1	CU.2034	1	1
CU.1815	1	1	CX.2080	1	1
CU.1819	1	1	CX.2375	1	1
CU.1842	1	1	CX.2385	1	1
CU.1843	1	1	CX.2391	1	1
CU.1849	1	1	CX.2583	1	1
CU.1850	1	1	CX.2633	1	1
CU.1871	1/0	0	CX.2708	1	1
CU.1951	1	1	CX.2720	1	1
CU.1953	1	1	CX.2841	1/0	1
CU.1970	1	1	CX.2866	1	0
CU.1972	1	1	DH.18	1	1
CU.1983	1	1	DH.4	1	1

**Tabla 6.** Evaluación de los marcadores moleculares asociados con el gen de resistencia *Ck-1* en los componentes de la variedad Tabi. La calificación binaria 1 indica la presencia de la forma alélica asociada con resistencia en forma homocigótica, 0 homocigoto para alelo asociado con susceptibilidad y 1/0 la presencia simultánea de las formas alélicas asociadas a resistencia y susceptibilidad (heterocigotos).

Línea	SAT235	FR34-6CTG	Línea	SAT235	FR34-6CTG
CJ.154	0	0	GA.494 (CJ.38)*	1	0
CJ.212	1	1	GB.266	1	1
CJ.215	1	1	GB.306	1	1
CJ.219	1	1	GB.571	1	0
CJ.220	1	1	GB.642	1	1
CJ.038	1	0	GB.682	1	1
CJ.416	1	0	GB.098	0	0
CJ.582	1	1	HG.101	0	0
CJ.588	1	1	HG.132	0	0
CJ.590	1	1	HG.041	0	0
GA.229 (CJ.581)*	1	1	HG.089	0	0
GA.294 (CJ.587)*	1	1			

\*Línea muerta en la Colección de Germoplasma, se evaluó una línea de igual genealogía.

6CTG fue el marcador que presentó con mayor frecuencia la forma alélica asociada con ausencia del fragmento de integración que contiene el gen *Ck-1*, para tres de los componentes de Castillo<sup>®</sup> general y en cinco de los componentes de las Variedades Castillo<sup>®</sup> Regionales (Tablas 7, 8, 11 y 12). El porcentaje de semilla certificada resistente a CBD, de las Variedades Castillo<sup>®</sup> liberadas en el 2005 estuvo entre el 87,5% y el 100% (Tablas 11 y 12).

Entre las variedades liberadas por Cenicafé, entre 2016 y 2018, se encuentra Cenicafe 1, variedad conformada en su totalidad por líneas portadoras del gen de resistencia *Ck-1*, siendo la resistencia a esta enfermedad uno de los criterios de selección de las líneas que

la componen (Flórez et al., 2016), solo una de las líneas presenta ausencia del marcador molecular más lejano al gen de resistencia a CBD (Tablas 9 y 11). Las variedades Castillo<sup>®</sup> Zonales (Flórez et al., 2018), Castillo<sup>®</sup> Norte y Castillo<sup>®</sup> Centro, cuentan con dos líneas componentes heterocigóticas para SAT235 y ausencia del marcador FR34-6CTG, mientras que tres líneas componentes de Castillo<sup>®</sup> Sur muestran este genotipo (Tablas 10 y 11), es decir, que una porción de la progenie del 18,2% de las componentes de Castillo<sup>®</sup> Norte y Castillo<sup>®</sup> Centro y del 27,3% de los componentes de Castillo<sup>®</sup> Sur será susceptible al CBD. El porcentaje de semilla certificada de Castillo<sup>®</sup> Zonales resistente a CBD está entre el 89,7% y el 93,2%.

**Tabla 7.** Evaluación de los marcadores asociados con el gen de resistencia *Ck-1* en los componentes de la variedad Castillo® General. La calificación binaria 1 indica la presencia de la forma alélica asociada con resistencia en forma homocigótica, 0 homocigoto para alelo asociado con susceptibilidad y 1/0 la presencia simultánea de las formas alélicas asociadas a resistencia y susceptibilidad (heterocigotos).

<b>Progenitor</b>	<b>SAT235</b>	<b>FR34.6CTG</b>	<b>Progenitor</b>	<b>SAT235</b>	<b>FR34.6CTG</b>
BH.1247	1	1	CU.1991	1	1
BH.1409	1/0	1	CU.1993	1	1
CU.1778	1	1	CU.2021	1	1
CU.1812	1	1	CU.2034	1	1
CU.1815	1	1	CX.2065	1	1
CU.1819	1	1	CX.2080	1	1
CU.1825	1	1	CX.2375	1	1
CU.1842	1	1	CX.2385	1	1
CU.1843	1	1	CX.2391	1	1
CU.1849	1	1	CX.2425	1	0
CU.1850	1	1	CX.2583	1	1
CU.1871	1/0	0	CX.2633	1	1
CU.1911	1/0	1	CX.2720	1	1
CU.1951	1	1	CX.2841	1/0	1
CU.1953	1	1	CX.2866	1	0
CU.1970	1	1	DH.18	1	1
CU.1972	1	1	DH.4	1	1
CU.1983	1	1			



**Tabla 8.** Evaluación de los marcadores moleculares asociados con el gen de resistencia *Ck-1* en los componentes de las variedades Castillo® regionales. La calificación binaria 1 indica la presencia de la forma alélica asociada con resistencia en forma homocigótica, 0 homocigoto para alelo asociado con susceptibilidad y 1/0 la presencia simultánea de las formas alélicas asociadas a resistencia y susceptibilidad (heterocigotos).

Línea	El Rosario	Naranjal	Paraguaicito	La Trinidad	Pueblo Bello	El Tambo	Santa Bárbara	SAT235	FR34.6CTG
BG.0459				X				1	1
BH.1247	X		X				X	1	1
BI.0712			X					1	1
CU.1778	X						X	1	1
CU.1812	X	X	X	X			X	1	1
CU.1815	X		X	X		X	X	1	1
CU.1825	X						X	1	1
CU.1827		X				X		1	1
CU.1842		X						1	1
CU.1843			X			X		1	1
CU.1852						X		1/0	0
CU.1855		X			X	X		1/0	0
CU.1911			X					1/0	1
CU.1928			X					1	1
CU.1970		X						1	1
CU.1997	X	X						1	1
CU.2021			X				X	1	1
CU.2034	X							1	1

Continúa...

...continuación.

Línea	El Rosario	Naranjal	Paraguacito	La Trinidad	Pueblo Bello	El Tambo	Santa Bárbara	SAT235	FR34.6CTG
CX.2065						X		1	1
CX.2074	X		X					1	1
CX.2178	X	X			X	X		1	1
CX.2197			X			X		1	1
CX.2385		X						1	1
CX.2391			X					1	1
CX.2710		X			X			1	1
CX.2720		X						1	1
CX.2827	X							1/0	0
CX.2848	X	X			X			1/0	0
CX.2866				X				1	0

**Tabla 9.** Evaluación de los marcadores moleculares asociados con el gen de resistencia *Ck-1* en los componentes de la variedad Cenicafé-1. La calificación binaria 1 denota la presencia de la forma alélica asociada con resistencia en forma homocigótica, 0 homocigoto para alelo asociado con susceptibilidad y 1/0 la presencia simultánea de las formas alélicas asociadas a resistencia y susceptibilidad (heterocigotos).

Línea	SAT235	FR34.6CTG
CU.1819	1	1
CU.1825	1	1
CU.1849	1	1
CU.1953	1	1
CU.1993	1	1
CU.2021	1	1
CU.2034	1	1
CX.2866	1	0

**Tabla 10.** Evaluación de los marcadores moleculares asociados con el gen de resistencia *Ck-1* en los componentes de las variedades Castillo® Zonales. La calificación binaria 1 denota la presencia de la forma alélica asociada con resistencia en forma homocigótica, 0 homocigoto para alelo asociado con susceptibilidad y 1/0 la presencia simultánea de las formas alélicas asociadas a resistencia y susceptibilidad (heterocigotos).

<u>Línea</u>	<u>Castillo® Norte</u>	<u>Castillo® Centro</u>	<u>Castillo® Sur</u>	<u>SAT235</u>	<u>FR34.6CTG</u>
BH.1247		X		1	1
DH.0018	X	X	X	1	1
DH.0004	X			1	1
CU.1852			X	1/0	0
CU.1855	X	X	X	1/0	0
CU.1871	X	X	X	1/0	0
CX.2710			X	1	1
CX.2720			X	1	1
CX.2633	X			1	1
CU.1951	X	X	X	1	1
CX.2385		X		1	1
CX.2391	X			1	1
CX.2178	X	X		1	1
CX.2065	X			1	1
CX.2080	X	X	X	1	1
CU.1827		X	X	1	1
CU.1778		X		1	1
CU.1842		X		1	1
CU.1843			X	1	1
CU.1850	X		X	1	1

**Tabla 11.** Distribución de alelos asociados al gen *Ck-1* en los progenitores de las líneas componentes de las variedades desarrolladas por Cenicafé y efecto sobre su progenie.

	Colombia	Tabi	Castillo® General	Cenicafé 1	Castillo® Norte	Castillo® Centro	Castillo® Sur
Número de líneas	34	23	32	8	11	11	11
Presencia 2 alelos de resistencia	91,2	56,5	96,6	63,6	81,8	81,8	72,7
Presencia alelo resistencia SAT235	100	73,9	100	100	100	100	100
Heterocigoto SAT235	8,8	0	9,4	0	18,2	18,2	27,3
Presencia alelo resistencia FR34.6CTG	91,2	56,5	96,6	63,6	81,8	81,8	72,7
Componentes con progenie susceptible (%)*	8,8	26	12,5	0	18,2	18,2	27,3
Semilla certificada resistente a CBD (%)*.**	96,7	73,9	95,3	100	93,2	93,2	89,7

\*Según presencia de forma alélica de resistencia del marcador SAT235

\*\*Cálculo para efecto dominante del gen *Ck-1* y asumiendo igual proporción de cada línea componente en la semilla certificada.

**Tabla 12.** Distribución de alelos asociados al gen *Ck-1* en los progenitores de las líneas componentes de las variedades regionales de Castillo® (2005) y efecto sobre su progenie.

	Rosario	Naranja	Paraguaito	La Trinidad	Pueblo Bello	El Tambo	Sta. Bárbara
<b>Número de líneas</b>	11	11	11	4	4	8	6
<b>Componentes progenie resistente (%)</b>							
Presencia 2 alelos de resistencia	81,8	81,82	90,91	75	50	75	100
Presencia alelo resistencia SAT235	100	100	100	100	100	100	100
Heterocigoto SAT235	18,2	18,18	9,09	0	50	25	0
Presencia alelo resistencia FR34.6CTG	81,8	81,82	100	75	50	75	100
<b>Componentes con progenie susceptible (%)*</b>	18,2	8,18	9,09	0	50	25	0
<b>Semilla certificada resistente a CBD (%)**,**</b>	95,4	95,4	97,7	100	87,5	93,75	100

\*Según presencia de forma alélica de resistencia del marcador SAT235

\*\*Cálculo para efecto dominante del gen *Ck-1* y asumiendo igual proporción de cada línea componente en la semilla certificada.

La diferencia de frecuencias de las formas alélicas de los marcadores SSRs asociados a la resistencia, evaluados para las variedades liberadas por Cenicafé, sugiere que hubo mayor presión de selección en favor del bloque de recombinación que contiene a SAT235 (que cosegrega con *Ck-1*) en el programa de selección por resistencia a la roya del café, que sobre el que contenía FR34-6CTG, lo que sugiere además la presencia de un gen de resistencia a roya derivado del HT en dicho bloque de recombinación, que puede corresponder a los genes SH6, SH7, SH8, SH9 o SH?, en un proceso genético conocido como arrastre genético por ligamiento, hipótesis que debe ser comprobada experimentalmente. Los estudios previos sugieren la cercanía de los factores de resistencia al marcador SAT235 y evidencian la ocurrencia de recombinación entre él y FR34-6CTG ya que se encuentran a una distancia de 17,2 cM (Gichuru et al., 2008). Esto también fue descrito por Alkimim et al. (2017) evaluando poblaciones derivadas de cruzamientos con HT. Este hallazgo demuestra la importancia de contar con marcadores moleculares estrechamente ligados al gen de interés para disminuir los errores de selección en programas apoyados por el análisis de marcadores moleculares como medida indirecta del fenotipo.

A pesar de que para algunos componentes de las líneas varietales el bloque introgresado que contiene el gen *Ck-1* no se había fijado en la generación F4, la estrategia de variedades multilínea desarrolladas por Cenicafé, hace que la población en general esté protegida teniendo desde 73,9% de plantas resistentes a CBD en cultivos comerciales de variedad Tabi hasta el 100% de las plantas resistentes con Cenicafé 1. Dado que, actualmente la resistencia a la enfermedad se basa en la presencia de un solo gen de efecto mayor es probable que la resistencia al CBD conferida por HT sea oligogénica (Van der Vossen &

Walyaro, 1980, 2009) y que la estrategia de diversidad genética dentro de las variedades multilínea permita distribución de otros factores que contribuyan a la resistencia. Adicionalmente el Programa de Mejoramiento Genético de Cenicafé está desarrollando líneas que contengan o piramidicen los genes de resistencia *R* y *k* presentes en las variedades Rume Sudan y Pretoria (Van der Vossen & Walyaro, 1980), para los que deben ser desarrollados marcadores moleculares para su detección e incorporación al programa de SAM de Cenicafé.

### **Relación entre fenotipo y genotipo**

Al comparar la presencia de los marcadores moleculares con los registros de las pruebas de hipocótilos no se observó relación entre la presencia de los marcadores, sea en conjunto o de manera individual, con el patógeno o aislamiento específico (Tabla 13). La evaluación de las pruebas de infectividad mostró casos como el de la línea CU.1970, con los dos marcadores de resistencia para *Ck-1* y resistente a cinco aislamientos de nueve probados en ese material, y otros como el CU.1843 con presencia de los 2 marcadores de resistencia y susceptible a los 5 aislamientos probados. Según registros de Teferi (2014), de 13 variedades resistentes a CBD liberadas en Etiopía, cuatro (31%) mostraron resistencia según la prueba de hipocótilo y también en el campo, mientras que siete (54%) fueron susceptibles mediante la prueba de hipocótilo pero resistentes en el campo, lo cual soporta la baja confiabilidad de la prueba, con un alto número de falsos negativos cuando se evalúan materiales resistentes. Van der Vossen y Walyaro (2009) discuten una serie de inconvenientes de la prueba de hipocótilos y la necesidad de ser rigurosamente estandarizada para obtener información consistente con la resistencia en plantas adultas en el tiempo y el espacio (sitio de siembra).

**Tabla 13.** Coeficiente de correlación Phi entre la presencia/ausencia de formas alélicas de resistencia de marcadores moleculares ligados a *Ck-1* y la resistencia/susceptibilidad a CBD mediante pruebas de hipocótilos.

Marcador	Aislamiento								
	Camerún		Mozambique	Kenia		Ruanda	Zimbabue		
	C	CA	M	Q	Q2	R	Z	Z1	Z9
SAT235	-0,202	-0,303	0,093	-0,034	-0,085	-0,058	-0,091	0,021	0,261
FR34-6CTG	0,037	-0,167	0,343	0,093	0,211	-0,058	-0,014	0,110	0,258

El análisis de las pruebas de inoculación sobre variedad Caturra, como control susceptible en prueba ciega hecha por el CIFC, mostró que en el 98,35% de 182 pruebas, el genotipo fue reportado como susceptible y en el porcentaje restante describen variaciones de temperatura en la cámara de inoculación, que podrían estar relacionadas con el error de la prueba. Reportes de Van der Vossen y Waweru (1977) indican que en temperaturas superiores a 24°C los genotipos susceptibles mostraron infección reducida o nula, mientras que a temperaturas inferiores a 17°C genotipos de alta resistencia desarrollaron lesiones. Resultados similares son reportados por Vieira et al. (2019) quienes hallaron alta reproducibilidad de la prueba sobre hipocótilos y frutos desprendidos en variedad Caturra (CIFC 19/1).

La prueba de infectividad de hipocótilos no muestra alta reproducibilidad cuando se evalúan materiales resistentes. Se realizaron 12 pruebas de inoculación para el HT-1343-CV2, progenitor de las primeras liberaciones de la variedad Colombia, donde solo en el 66,66% de los casos el genotipo fue registrado como resistente. Aun si se evalúan semillas derivadas de un genotipo heterocigótico portador de un gen dominante, una prueba consistente calificaría en la mayoría de los casos como resistente al genotipo que segregue en relación 3:1 para fenotipos resistentes y susceptibles, respectivamente. Cabe anotar que el HT-

1343-CV2 es el progenitor de Catimor 88, material utilizado como fuente de resistencia para mapear el gen *Ck-1* (Gichuru et al., 2008), y también progenitor de otros materiales que fueron desarrollados en Cenicafé, los cuales han sido utilizados en programas de mejoramiento del café en Kenia, Tanzania y Zambia, como fuente de porte bajo y resistencia conjunta a CBD y a la roya (Mtenga et al., 2006; Kilambo et al., 2013a y 2013b; Gichuru, 2007; Omondi et al., 2001; Silva et al., 2006). Estas diferencias en la reproducibilidad de la prueba de infectividad soportan la discusión de Van der Vossen y Walyaro (2009) acerca de la necesidad de una rigurosa estandarización de la técnica, cuyos resultados son cruciales para el desarrollo de variedades resistentes a CBD en ausencia del patógeno.

Los resultados de este trabajo muestran el potencial de los estudios en genómica estructural y comparativa, que asociados con el mapeo de genes puede proveer herramientas para avanzar de forma rápida y precisa en el desarrollo de variedades de café. Adicionalmente los resultados obtenidos por los programas de mejoramiento en África, utilizando materiales desarrollados por Cenicafé, han demostrado la durabilidad de la resistencia a CBD proveniente de genes ubicados en regiones de introgresión heredadas del HT. Los resultados de este trabajo sugieren que la caficultura colombiana, con las variedades resistentes desarrolladas por

Cenicafé y puestas al alcance de los caficultores, se encuentra preparada ante la eventual llegada de *C. kahawae* subsp. *kahawae* al país, ya que para el 2018 cerca del 80% del café plantado en el país corresponde a las variedades Colombia, Tabi y Castillo® y continuará en aumento con las nuevas variedades Cenicafe 1 y Castillo® Zonales.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Jairo Jaramillo, Jhon Esteban Quintero y Carlos Augusto Vera por su colaboración en el desarrollo del trabajo, a Rubén Medina por la revisión de pruebas estadísticas, a Gustavo A. Marín por su asesoría en construcción de gráficas usando el programa R y a Beatriz Padilla por su ayuda en la corrección del texto.

## LITERATURA CITADA

- Alworah, G. O., (2019, abril 27). *Mummified berries due to CBD infection, Over 80% crop loss*. <https://nextgen.iupac2019.be/2019/02/26/development-and-promotion-of-biological-control-approaches-for-management-of-coffee-berry-disease/>
- Alkimim, E. R., Caixeta, E. T., Sousa, T. V., Pereira, A. A., Oliveira, A. C. B., Zambolim, L., & Sakiyama, N. S. (2017). Marker-assisted selection provides arabica coffee with genes from other *Coffea* species targeting on multiple resistance to rust and coffee berry disease. *Molecular Breeding*, 37(1), 6. <https://doi.org/10.1007/s11032-016-0609-1>
- Alvarado, G., Posada, H. E., & Cortina, H. A. (2005a). Castillo®: Nueva variedad de café con resistencia a la roya. *Avances Técnicos Cenicafe*, 337, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/401>
- Alvarado, G., Posada, H. E., Cortina, H. A., Duque, H., Baldión, J. V., & Guzmán, O. (2005b). La Variedad Castillo® Pueblo Bello para las regiones cafeteras de Magdalena, Cesar, La Guajira y Norte de Santander. *Avances Técnicos Cenicafe*, 341, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/342>
- Alvarado, G., Posada, H. E., Cortina, H. A., Duque, H., Baldión, J. V., & Guzmán, O. (2005c). La Variedad Castillo® Santa Bárbara para las regiones cafeteras de Cundinamarca y Boyacá. *Avances Técnicos Cenicafe*, 342, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/383>
- Alvarado, G., Posada, H. E., Cortina, H. A., Duque, H., Baldión, J. V., & Guzmán, O. (2005d). La Variedad Castillo® La Trinidad para las regiones cafeteras del Tolima. *Avances Técnicos Cenicafe*, 343, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/348>
- Alvarado, G., Posada, H. E., Cortina, H. A., Duque, H., Baldión, J. V., & Guzmán, O. (2006a). La Variedad Castillo® Naranjal para las regiones cafeteras de Caldas, Quindío, Risaralda y Valle del Cauca. *Avances Técnicos Cenicafe*, 338, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/413>
- Alvarado, G., Posada, H. E., Cortina, H. A., Duque, H., Baldión, J. V., & Guzmán, O. (2006b). La Variedad Castillo® Paraguaicito para las regiones cafeteras de Quindío, Risaralda y Valle del Cauca. *Avances Técnicos Cenicafe*, 339, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/417>
- Alvarado A., G., Posada S., H. E., Cortina G., H. A., Duque O., H, Baldión R., J. V. & Guzmán M., O. (2006c). La Variedad Castillo® El Rosario para las regiones cafeteras de Antioquia, Risaralda y Caldas. *Avances Técnicos Cenicafe*, 340, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/403>
- Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., Davis, A. P., Dolinski, K., Dwight, S. S., Eppig, J. T., Harris, M. A., Hill, D. P., Issel-Tarver, L., Kasarskis, A., Lewis, S., Matese, J. C., Richardson, J. E., Ringwald, M., Rubin, G. M., & Sherlock, G. (2000). Gene ontology: tool for the unification of biology. *Nature genetics*, 25(1), 25-29. <https://doi.org/10.1038/75556>
- Castillo Z., J., & Moreno R., L. G. (1988). *La variedad Colombia: Selección de un material compuesto resistente a la roya del café*. Cenicafe.
- Clarindo, W. R., Carvalho, C. R., Caixeta, E. T., & Koehler, A. D. (2013). Following the track of “Híbrido de Timor” origin by cytogenetic and flow cytometry approaches. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(8), 2253-2259. <https://doi.org/10.1007/s10722-013-9990-3>
- Cook, R. T. A., & Van der Vossen, H. A. M. (1972). Screening coffee plants for CBD resistance. *Annual Report Coffee Research Foundation, Kenya*, 73, 66-68.
- Denoeud, F., Carretero-Paulet, L., Dereeper, A., Droc, G., Guyot, R., Pietrella, M., Zheng, C., Alberti, A., Anthony, F., Aprea, G., Aury, J.-M., Bento, P., Bernard, M., Bocs, S., Campa, C., Cenci, A., Combes, M.-C., Cruzzillat,



- D., Da Silva, C., ... Lashermes, P. (2014). The coffee genome provides insight into the convergent evolution of caffeine biosynthesis. *Science*, *345*(6201), 1181-1184. <https://doi.org/10.1126/science.1255274>
- Flórez, C. P., Maldonado, C. E., Cortina, H. A., Moncada, M. P., Montoya, E. C., Ibarra, L. N., Unigarro, C. A., Rendón, J. R., & Duque, H. (2016). Cenicafé 1 nueva variedad de porte bajo, altamente productiva, resistente a la roya y al CBD, con mayor calidad física del grano. *Avances Técnicos Cenicafé*, *469*, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/1114>
- Flórez, C. P., Arias, J. C., Maldonado, C. E., Cortina, H.A., Moncada, M. P., Quiroga, J., Molina, D. M., García, J. C., & Duque, H. (2018). Variedades Castillo® Zonales: resistencia a la roya con mayor productividad. *Avances Técnicos Cenicafé*, *489*, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/1115>
- The Gene Ontology Consortium. (2019). The gene ontology resource: 20 years and still GOing strong. *Nucleic Acids Research*, *47*(D1), D330-D338. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1055>
- Gichimu, B. M., Gichuru, E. K., Mamati, G. E., & Nyende, A. B. (2014). Occurrence of *Ck-1* gene conferring resistance to Coffee Berry Disease in *Coffea arabica* cv. Ruiru 11 and its parental genotypes. *Journal of Agricultural and Crop Research*, *2*(3), 51-61.
- Gichuru, E. K. (2007). *Characterization of genetic resistance to Coffee Berry Disease (Colletotrichum kahawae Waller and Bridge) in Arabica coffee (Coffea arabica L.) that is introgressed from Coffea canephora Pierre*. [Unpublished doctoral dissertation]. University of Nairobi.
- Gichuru, E. K., Agwanda, C. O., Combes, M. C., Mutitu, E. W., Ngugi, E. C. K., Bertrand, B., & Lashermes, P. (2008). Identification of molecular markers linked to a gene conferring resistance to coffee berry disease (*Colletotrichum kahawae*) in *Coffea arabica*. *Plant pathology*, *57*(6), 1117-1124. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01846.x>
- Griffiths, E., Gibbs, J. N., & Waller, J. M. (1971). Control of coffee berry disease. *Annals of Applied Biology*, *67*(1), 45-74. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1971.tb02907.x>
- Guzmán, F.A., & Moncada-Botero, M. (2012). Evaluación de marcadores SSR ligados a resistencia a *Colletotrichum kahawae* en *Coffea arabica*. *Revista Cenicafé*, *63*(2), 7-22. <http://hdl.handle.net/10778/532>
- Kilambo, D. L., Reuben, S. O., & Mamiro, D. (2013a). Races of *Hemileia vastatrix* and variation in pathogenicity of colletotrichum kahawae isolates to compact coffee genotypes in Tanzania. *Journal of Plant Studies*, *2*(2), 95-104. <http://www.suaire.suanet.ac.tz:8080/xmlui/handle/123456789/1304>
- Kilambo, D. L., Reuben, S. O., & Mamiro, D. P. (2013b). Responses of Compact Coffee Clones Against Coffee Berry and Coffee Leaf Rust Diseases in Tanzania. *Journal of Plant Studies*, *2*(2), 81-94. <http://www.suaire.suanet.ac.tz:8080/xmlui/handle/123456789/1422>
- Lashermes, P., Combes, M. C., Ribas, A., Cenci, A., Mahé, L., & Etienne, H. (2010). Genetic and physical mapping of the SH3 region that confers resistance to leaf rust in coffee tree (*Coffea arabica* L.). *Tree Genetics & Genomes*, *6*(6), 973-980. <https://doi.org/10.1007/s11295-010-0306-x>
- Moncada, M. D. P., Tovar, E., Montoya, J. C., González, A., Spindel, J., & McCouch, S. (2015). A genetic linkage map of coffee (*Coffea arabica* L.) and QTL for yield, plant height, and bean size. *Tree Genetics & Genomes*, *12*(1), 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11295-015-0927-1>
- Mtenga, D. J., Kilambo, D. L., Teri, J. M., & Masumbuko, L. (2006, september 10-15). *Progress in developing Coffee Berry Disease (Colletotrichum kahawae) resistant compact hybrid varieties (Coffea arabica) in Tanzania* [Conference session]. 21<sup>st</sup> International Scientific Colloquium on Coffee, Montpellier, France. <https://www.asic-cafe.org/conference/21st-international-scientific-colloquium-coffee/progress-developing-coffee-berry-disease>
- Mugo, H. M., Irungu, L. W., & Ndegwa, P. N. (2012). The diseases of coffee under the changing climate: The established situation in Kenya. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *2*(2A), 265-267.
- Omondi, C. O., Ayiecho, P. O., Mwang'ombe, A. W., & Hindorf, H. (2001). Resistance of *Coffea arabica* cv. Ruiru 11 tested with different isolates of *Colletotrichum kahawae*, the causal agent of coffee berry disease. *Euphytica*, *121*(1), 19-24. <https://doi.org/10.1023/A:1012056622969>
- Phiri, N. (2018). *Colletotrichum kahawae*. Centre for Agriculture and Bioscience International—CABI. <https://www.plantwise.org/knowledgebank/datasheet/14916/>
- Posada, H. E., Alvarado, G., Cortina, H. A., Solarte, C. R., Duque, H., Baldión, J. V., & Guzmán, O. (2006). La Variedad Castillo® El Tambo: para las regiones cafeteras de Cauca, Nariño, Huila, Tolima y Valle del Cauca.

- Avances Técnicos Cenicafé*, 344, 1-8. <http://hdl.handle.net/10778/390>
- Schuler, G. D. (1997). Sequence mapping by electronic PCR. *Genome Research*, 7(5), 541-550. <https://doi.org/10.1101/gr.7.5.541>
- Silva, M. D. C., Várzea, V., Guerra-Guimarães, L., Azinheira, H. G., Fernandez, D., Petitot, A. S., Bertrand, B., Lashermes, P., & Nicole, M. (2006). Coffee resistance to the main diseases: leaf rust and coffee berry disease. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 119-147. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100010>
- Teferi, D. (2014). Status of released *Coffea arabica* varieties for their resistance to *Colletotrichum kahawae* (coffee berry disease) under laboratory condition. *Discourse Journal of Agriculture and Food Sciences*, 2(6), 197-202. <http://www.resjournals.org/JAFS/PDF/2014/Jun/Teferi.pdf>
- Van der Graaff, N. A. (1981). *Selection of arabica coffee types resistant to coffee berry disease in Ethiopia*. [Unpublished doctoral dissertation]. Agricultural University of Wageningen.
- Van Der Vossen, H. A. M. & Walyaro, D. J. (1980) Breeding for resistance to coffee berry disease in *Coffea arabica* L. II. Inheritance of resistance. *Euphytica*, 29(3), 777–791. <https://doi.org/10.1007/BF00023225>
- VanDerVossen, H.A. M., & Walyaro, D.J. (2009). Additional evidence for oligogenic inheritance of durable host resistance to coffee berry disease (*Colletotrichum kahawae*) in arabica coffee (*Coffea arabica* L.). *Euphytica*, 165(1), 105-111. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9769-3>
- Van Der Vossen, H. A. M. & Waweru J. M. (1977). A temperature controlled inoculation room to increase efficiency of preselection for resistance to coffee berry disease. *Kenya Coffee*, 41, 164–167.
- Vieira, A., Diniz, I., Loureiro, A., Pereira, A. P., Silva, M. C., Várzea, V., & Batista, D. (2019). Aggressiveness profiling of the coffee pathogen *Colletotrichum kahawae*. *Plant pathology*, 68(2), 358-368. <https://doi.org/10.1111/ppa.12950>
- Yang, S., Zhang, X., Yue, J. X., Tian, D., & Chen, J. Q. (2008). Recent duplications dominate NBS-encoding gene expansion in two woody species. *Molecular Genetics and Genomics*, 280(3), 187-198. <https://doi.org/10.1007/s00438-008-0355-0>
- Zhou, T., Wang, Y., Chen, J.Q., Araki, H., Jing, Z., Jiang, K., Shen, J., & Tian, D. (2004). Genome-wide identification of NBS genes in japonica rice reveals significant expansion of divergent non-TIR NBS-LRR genes. *Molecular Genetics and Genomics*, 271(4), 402-415. <https://doi.org/10.1007/s00438-004-0990-z>

**FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA**  
**GERENCIA TÉCNICA**  
**PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA**  
**Centro Nacional de Investigaciones de Café**  
**“Pedro Uribe Mejía”**

**DIRECCIÓN**

---

Álvaro León Gaitán B., Microbiólogo, Ph.D.  
Diana Marcela Buitrago R., Administrador de Empresas

**DISCIPLINAS DE INVESTIGACIÓN**

---

**Calidad**

Valentina Osorio P., Ing. Alimentos, Esp.  
Jenny Paola Pabón U., Ing. Agrícola, M.Sc.  
Claudia Patricia Gallego A., Bacterióloga, M.Sc.  
Luz Fanny Echeverry G., Química  
Claudia Rocío Gómez P., Tecnóloga Química  
Paola Andrea Calderón T., Tecnólogo en Producción Agropecuaria Ecológica

**Biometría**

Rubén Darío Medina R., Estadístico, M.Sc.  
Esther Cecilia Montoya R., Estadístico, M.Sc.  
Hernando García O., Ing. Agroforestal  
Luis Carlos Imbachi Q., Estadístico  
Daniela Alejandra Osorio A., Aprendiz Universitario

**Economía Agrícola**

Hugo Mauricio Salazar E., Ing. Agrónomo, M.Sc.  
César Alberto Serna G., Contador, M.Sc.  
Juan Carlos Gómez S., Contador, Ing. Agrónomo, M.Sc.

**Fisiología Vegetal**

José Ricardo Acuña Z., Biólogo, Ph.D.  
Aristóteles Ortiz, Químico, M.Sc.  
Carlos Andrés Unigarro M., Ing. Agrónomo, M.Sc.  
Natalia Catalina Flechas B., Biólogo  
Marta Bibiana Escobar P., Tecnóloga Química  
Claudia Patricia Valencia V., Técnico en producción de café  
Claudia Marcela Mora A.  
Mario Franco A.  
Juan David Osorio G., Pasante Universitario

**Suelos**

Siavosh Sadeghian K., Ing. Agrónomo, M.Sc., Ph.D.  
Hernán González O., Ing. Agrónomo, M.Sc., Ph.D.  
Luis Fernando Salazar G., Ing. Agrónomo, M.Sc., Ph.D.  
Luz Adriana Lince S., Ing. Agrónomo, Geóloga, M.Sc.  
Juan Camilo Rey S., Ing. Agrónomo, M.Sc.  
Vanessa Catalina Díaz P., Química, M.Sc.  
Arturo Gómez V.

**Fitotecnia**

Francisco Fernando Farfán V., Ing. Agrónomo, M.Sc.  
José Raúl Rendón S., Ing. Agrónomo, M.Sc.  
Santiago Jaramillo C., Ing. Agrónomo, M.Sc.  
Andrés Felipe León B., Ing. Agrónomo

Cristian Salomón Rodríguez V., Ing. Agrónomo  
Alexander Jaramillo J.

**Mejoramiento Genético**

Claudia Patricia Flórez R., Ing. Agrónomo, Ph.D.  
Diana María Molina V., Bacterióloga, Ph.D.  
Carlos Ernesto Maldonado L., Ing. Agrónomo, M.Sc.  
Juan Carlos Arias S., Ing. Agrónomo, M.Sc.  
Julio Quiroga C., Ing. Agrónomo, M.Sc.  
Luisa Fernanda López M., Ing. Agrónomo  
Carlos Augusto Ramírez C., Administrador de Empresas Agropecuarias  
Carlos Augusto Vera A., Administrador Financiero  
Jairo Jaramillo O., Ing. Mecatrónico  
Marlio Fernando Abella D., Agrónomo  
Mauricio Jiménez S., Ing. Agrónomo, M.Sc.  
Gilbert Rodríguez Q., Técnico Profesional en Desarrollo de Producción Pecuaria  
Jhon Esteban Quintero A., Técnico en Producción de Café  
Hernán Díaz C.  
Cruz Elena Díaz M.  
Omar Villarreal  
Diana Camila Muñoz C., Pasante Universitario

**Entomología**

Pablo Benavides M., Ing. Agrónomo, Ph.D.  
Carmenza E. Góngora B., Microbióloga, Ph.D.  
Zulma Nancy Gil P., Ing. Agrónomo, Ph.D.  
Marisol Giraldo J., Ing. Agrónomo, M.Sc., Ph.D.  
Lucio Navarro E., Biólogo, Ph.D.  
Luis Miguel Constantino C., Biólogo Entomólogo, M.Sc.  
Anibal Arcila M., Ing. Agrónomo  
Mauricio Jiménez Q., Agrónomo  
Jesús Hernando Gómez L., Biólogo  
Juan Diego Maldonado C., Biólogo  
Laura Alexandra Laiton J., Ing. Agrónomo  
Claudia Patricia Martínez D., Bacterióloga  
Diana Soraya Rodríguez A., Técnico en Producción de Café  
Luis Eduardo Escobar S., Tecnólogo en Gestión Agropecuaria  
Carlos Alberto Quintero A.  
Claudia Bibiana Tabares B.  
Faber de Los Ríos P.  
Diana Marcela Giraldo V.  
José Robín García C.  
Gloria Patricia Naranjo E.  
Fernán Santiago Mejía A., Pasante Universitario

**Agroclimatología**

Juan Carlos García L., Ing. Agrónomo, Ph.D.  
Ninibeth Gibelli Sarmiento H., Ing. Agrícola, M.Sc.  
Carolina Ramírez C., Ing. Agrícola, M.Sc.  
Jonnier Alejandro Hoyos A., Administración de Empresas Agropecuarias  
Wilmar A. Rendón G., Tecnólogo en Sistemas Informáticos

Jorge Wilmar Valencia G., Tecnólogo en Análisis y Desarrollo de Sistemas de Información  
Luis Gonzaga Henao R.  
Luis Fernando Torres Q.  
Orlando Salazar G.

#### **Fitopatología**

Carlos Ariel Ángel C., Ing. Agrónomo, Ph.D.  
Rosa Lilia Ferrucho, Ing. Agrónoma, Ph.D.  
Nancy del Carmen Arciniegas B., Ing. Agrónoma, M.Sc.  
Gustavo Adolfo Marín R. Ing. Agrónomo, M.Sc.  
Isabel Cristina Ramírez P., Ing. Agrónomo  
Carlos Alberto Zuluaga E., Técnico en Mantenimiento de Computadores y Redes de datos.  
Carlos Arturo González V.  
Jorge Dicksson Ocampo M.  
María Paula Trujillo B., Pasante Universitario

#### **Poscosecha**

Juan Rodrigo Sanz U., Ing. Mecánico, M.Sc., Ph.D.  
Nelson Rodríguez V., Ing. Químico, Ph.D.  
Aída Esther Peñuela M., Ing. Alimentos, M.Sc., Ph.D.  
César Augusto Ramírez G., Arquitecto, M.Sc.  
Juan Carlos López N., Microbiólogo, M.Sc.  
Álvaro Guerrero A., Ing. Electrónico/Electricista, M.Sc.  
Laura Vanessa Quintero Y., Ing. Química, M.Sc.  
Carlos Alfonso Tibaduiza V., Ing. Agrícola, M.Sc.  
Diego Antonio Zambrano F., Ing. Químico  
Ricardo José Grisales M., Tecnólogo en Electrónica  
Jorge Alexander Londoño C., Técnico en Soldadura  
Mario Espinosa G.  
Javier Velásquez H.  
Samuel Castañeda  
Juan Carlos Ortiz F.  
Evelyn Orozco T., Aprendiz Universitario  
Geiner Andrés Ossa G., Aprendiz

#### **EXPERIMENTACIÓN**

---

Carlos Gonzalo Mejía M., Administrador de Empresas Agropecuarias, M.Sc.  
José Farid López D., Tecnólogo en Administración Agropecuaria  
Alejandra Marcela Garcés G., Tecnólogo en Administración Agropecuaria  
Yolanda Castaño G.

#### **Estación Experimental Naranja**

Jhon Félix Trejos P., Ing. Agrónomo  
Melsar Danilo Santamaría B., Ing. de Alimentos  
Tito Alberto Ramírez S.  
Paula Andrea Pérez V., Aprendiz

#### **Estación Experimental El Tambo**

Hernán Darío Menza F., Ing. Agrónomo, M.Sc.

#### **Estación Experimental El Rosario**

Carlos Mario Ospina P., Ing. Forestal, M.Sc.

#### **Estación Experimental La Catalina**

Héctor Flavio Álvarez A., Ing. Agrónomo

#### **Estación Experimental La Trinidad**

Myriam Cañón H., Ing. Agrónomo, M.Sc.

Estación Experimental Paraguaicito  
Daniel Antonio Franco C., Agrónomo

#### **Estación Experimental Pueblo Bello**

José Enrique Baute B., Ing. Agrónomo

#### **Estación Experimental San Antonio**

Carlos Roberto Ariza O., Ing. Agrónomo, Esp.

#### **Divulgación y Transferencia**

Sandra Milena Marín L., Ing. Agrónoma, Esp., M.Sc.  
Jair Montoya T., Administrador de Empresas, M.Sc.  
Carmenza Bacca R., Diseñadora Visual  
Óscar Jaime Loaiza E., Diseñador Visual  
Luz Adriana Álvarez M., Diseñadora Visual  
Paula Andrea Salgado V., Administrador Financiero  
Karen Johana Cuadros O., Pasante Universitario  
Sebastián Mejía O., Pasante Universitario  
Gineth Lorena Gaviria B., Aprendiz

#### **Tecnología de la Información y Comunicaciones**

Luis Ignacio Estrada H., Ing. Químico  
Carlos Hernán Gallego Z., Ing. de Sistemas, Esp.  
Miguel Alfonso Castiblanco C., Bibliotecólogo/Ing. de Sistemas  
Elkin Marcelo Valencia L., Ing. de Sistemas, Esp.  
Daniel Orozco J., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.  
Leonardo Adolfo Velásquez N., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.  
Kevin Adolfo Hincapié V., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.  
Andrés Felipe Ramírez M., Ing. de Sistemas y Telecomunicaciones, Esp.  
Auberto Quiroga M., Biólogo, Esp.  
Juan Camilo Espinosa O., Ing. Topográfico, Esp.  
Juan Pablo Carvajal B., Ing. Electrónico  
Federico Higuera R., Pasante, Universitaria  
Miguel Ángel Salamanca Q., Pasante Universitario

#### **UNIDAD ADMINISTRATIVA Y FINANCIERA**

---

Luz Miryam Corredor R., Administradora de Empresas, Contador Público, Esp.  
Rufina Perdomo G.  
Nancy Elena Pérez M., Contador

#### **Gestión Contable y Tributaria**

Martha Elena Vélez H., Contadora, Esp.  
Daniela López O., Contadora, Esp.  
Jorge Eduardo Dávila M., Contador Público, Esp.  
Luis Alfredo Amaya F., Administrador Público  
Lina Marcela Patiño G., Administradora de Empresas  
Juan Camilo Escobar G., Aprendiz

#### **Gestión de Bienes y Servicios - Compras y Contratación**

Ángela Jaramillo G., Prof. en Comercio Internacional, Esp.  
Mauricio Loaiza M., Ing. Industrial  
Carolina Correa M., Profesional en Negocios Internacionales  
Diego Alejandro Muñoz G., Economista  
Lina María Giraldo., Administrador Financiero  
Luz Stella Duque C., Tecnóloga en Administración de Negocios

Jesús Alberto Vergara T., Técnico en Sistemas  
Gabriel Antonio Melo P.  
Sandra Medina A., Aprendiz

**Gestión de Bienes y Servicios - Mantenimiento**

Paulo Alejandro Arias C., Ing. Electricista, Esp.  
Cristian Andrés Chica G., Ing. Mecatrónico  
María Alejandra López R., Ing. Mecatrónica  
Robinson Guzmán G., Técnico Electricista  
Jorge Hernán Marulanda E., Tecnólogo en Electrónica  
Albert Johanne Agudelo L., Tecnólogo en Electrónica  
Gabriel Hernando Ortiz C., Tecnólogo en Gestión Bancaria  
y Financiera  
José Gildardo Aguirre O., Tecnólogo en Mantenimiento  
eléctrico industrial  
Mauricio Londoño V., Tecnólogo en Mantenimiento Eléctrico  
Industrial  
Uriel López P.  
Fredy Hernán Osorio C.  
Jhon Fredy Rojo G.  
Jorge Eduardo Sepúlveda V.  
Jorge Antonio Arias A.

Carlos Andrés Hernández G.  
Fabián Sánchez L.  
Mario López L.

**Gestión de Tesorería**

Jesús Danilo González O., Contador, Esp.

**Gestión del Talento Humano**

Érica Mayerly Galvis R., Trabajadora Social, M.Sc.  
Elsa Natalia Quintero C., Profesional en Salud Ocupacional,  
M.Sc.  
Germán Uriel Granada, Administrador de Empresas, Esp.  
Luz Yaneth Guarín C., Tecnóloga en Administración de  
Negocios  
Leidy Lorena Villada E., Pasante Universitario

**Planeación Financiera y Presupuesto**

Jesús Alberto Cardona L., Ing. Industrial, M.Sc., PMP®  
Valentina Sepúlveda C., Ingeniera Industrial, Esp., PMP®  
Juan Manuel Meza S., Administrador de empresas, M.Sc.  
Cindy Yohanna Salazar V., Técnica en Administración

## Instructivo para la elaboración de los artículos de la Revista Cenicafé

### TEXTOS

- Digite los textos, no los diagrame.
- Cuando cite la palabra Cenicafé, escriba la primera letra en mayúscula y las siguientes en minúsculas.
- Los nombres científicos se escriben en letra itálica o cursiva; la primera letra debe ir en mayúscula, ejemplo: *Beauveria bassiana*.
- Las palabras *et al.*, *in vitro* y cualquier otra locución latina se escriben en letra itálica o cursiva.
- El estilo de escritura debe ser absolutamente impersonal, en tiempo gramatical pasado, evitando la conjugación de verbos en primera o tercera persona del singular o el plural.
- Las ecuaciones deben nombrarse y enumerarse mediante el siguiente modelo matemático <>:  $A = R \times K \times S \times L \times C \times P <1>$ .
- Si se emplean siglas y abreviaturas poco conocidas, se indicará su significado la primera vez que se mencionen en el texto y en las demás menciones bastará con la sigla o abreviatura.
- Evite al máximo el uso de nuevas siglas poco conocidas.

### TABLAS Y FIGURAS

- Elabore las tablas en el formato de tabla de Word o de Excel.
- No las incluya en el documento como fotos o imágenes.
- Las cifras decimales sepárelas con una coma, no con punto.
- Las tablas deben titularse en la parte superior y al enunciarla en el texto, la palabra se debe escribir con la primera letra en mayúscula, ejemplo: Tabla 10.
- Las tablas deben crearse en blanco y negro.
- Como norma general, las figuras deben titularse en la parte inferior, y cuando enuncie la figura en el texto, la palabra se debe escribir con la primera letra en mayúscula, ejemplo: Figura 10.
- Las fotografías se deben tomar con el mayor tamaño (número de píxeles) y la mejor calidad (Fine) posibles, ya que esto asegura mejores impresiones de informes, pósteres o publicaciones.
- Las fotografías deben nombrarse con el autor y su descripción.
- Las tablas y figuras deben presentarse en archivos independientes y con numeración consecutiva (Tabla 1... Tabla n, Figura 1... Figura n, etc.).
- Los textos y tablas deben presentarse en el procesador de palabra Word.
- Las tablas y los diagramas de frecuencia (barras y torta) originales deben suministrarse en el archivo del manuscrito y también en su original de Excel.
- Otras figuras, como fotografías sobre papel y dibujos, se pueden enviar en originales o escanearlas y remitirlas en el formato digital de compresión JPG, preferiblemente con una resolución de 600 x 600 dpi (mínimo 300 dpi).

### ECUACIONES

- Use una sola letra para denotar una variable y emplee subíndices para particularizar.
- Para las variables utilice letra itálica.
- El producto no se denota con \*. Use solamente espacios.
- Las matrices y vectores se denotan con letra en negrilla e itálica.

### SISTEMA DE UNIDADES

- En los productos de investigación a divulgar se utiliza exclusivamente el Sistema Métrico Decimal (SI), además de las unidades específicas de mayor uso por parte de la comunidad científica.

- Los puntos de multiplicación y los números superíndice negativos pueden ser usados solamente con unidades del SI (por ejemplo,  $\text{m}^3\cdot\text{s}^{-1}$  y no  $\text{m}^3\text{s}^{-1}$ , que podría indicar milisegundos).
- No se debe interrumpir la notación de unidades del SI con símbolos que no corresponden a unidades del sistema internacional ni con palabras diferentes, porque las unidades son expresiones matemáticas. Reordene la frase apropiadamente, por ejemplo así:
  - El rendimiento en peso seco fue de  $5\text{ g}\cdot\text{día}^{-1}$ , y no  $5\text{ g de peso seco}\cdot\text{día}^{-1}$
  - Se aplicaron  $25\text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$  del ingrediente activo, y no  $25\text{ g i.a.}/\text{ha}$
  - Cada planta recibió  $20\text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$  de agua, y no  $20\text{ g H}_2\text{O}/\text{ha}$  por planta
- Use la línea oblicua o *slash* (/) para conectar unidades del SI con unidades que no son del SI (por ejemplo:  $10\text{ °C}/\text{h}$  ó  $10\text{ L}/\text{materia}$ ).
- Nunca use el punto elevado (.) y el *slash* en la misma expresión. Si se hallan mezcladas unidades del SI con unidades que no son del SI, use primero el slash y luego la palabra 'por' en segundo término.
- Nunca utilice dos o más líneas oblicuas o *slashes* (/) o la palabra 'por' más que una vez en la misma frase, pues estos dos términos son equivalentes; por ejemplo en cepilladas/día por planta, redacte la frase así: cada planta fue cepillada dos veces al día. Para unidades totalmente verbales, use un slash, como en 3 flores/planta ó 10 frutos/rama.
- Use la misma abreviatura o símbolo para las formas en singular o plural de una unidad determinada (por ejemplo, 1 kg y 25 kg). Deje un espacio entre el valor numérico y el símbolo (por ejemplo, 35 g y no 35g). En una serie de medidas ponga la unidad al final (excepto para el signo de porcentaje) así: entre  $14\text{ y }20\text{ °C}$  o hileras a 3, 6 y 9 m, pero 14%, 16% y 18%.
- En las publicaciones se emplea la coma (,) para separar decimales y el punto (.), para separar miles y millones.

## BIBLIOGRAFÍA

Antes de enviar las propuestas de publicaciones tenga en cuenta que las citas deben estar ajustadas a las normas APA.

## ESTRUCTURA DEL ARTÍCULO CIENTÍFICO

El artículo postulado para su publicación debe ser original o inédito, y de igual manera no puede estar postulado para su publicación en otras revistas.

### Título - Máximo 16 palabras

- Que sea breve y preciso.
- Que identifique el aporte del estudio, es decir, hágalo interesante pero preciso.
- Si se incluye el nombre común o el binomial (científico) de una especie en el título, utilice uno de los dos pero nunca ambos.
- No prometa más de lo que va a entregar.
- Evite el uso de subtítulos.
- Evite abreviaturas, paréntesis, fórmulas, caracteres desconocidos.
- Nombre del (los) autor (es).
- Se debe incluir la profesión y demás títulos obtenidos.
- Si el autor o alguno de los autores ya no se encuentra trabajando en Cenicafé, se debe incluir la fecha de retiro (mes y año).
- Proveer una versión del título en inglés.

### Resumen - Máximo 250 palabras

- El resumen debe señalar de manera concisa los objetivos, resultados y conclusiones del estudio.
- No debe contener referencias bibliográficas.
- Su contenido se debe entender sin tener que recurrir al texto, tablas y figuras.

- Al final del resumen deben incluirse de 3 a 6 palabras claves que describan los tópicos más importantes del trabajo, con el fin de facilitar la inclusión en los índices internacionales; las palabras claves no deben estar incluidas en el título.

### **Abstract - Máximo 250 palabras**

Es la versión del resumen traducida al inglés. Debe ser preparado por el autor y debe incluirse.

### **Introducción - Máximo 1.000 palabras**

Debe incluir:

- La naturaleza del problema, de manera concisa.
- El estado del problema (revisión de literatura).
- Solo deben citarse las referencias estrictamente pertinentes.
- No debe incluir datos, ni conclusiones del trabajo.
- El propósito de la investigación.

### **Materiales y métodos - Máximo 1.100 palabras**

Debe escribirse de tal manera que un investigador con conocimiento del tema pueda repetirlo, que informe al lector cómo fue realizado el estudio y proporcione suficiente información para interpretarlo y evaluarlo. Esté seguro de no omitir información que pueda afectar la interpretación de los resultados, es decir:

- Describa las condiciones experimentales, precisa y concisamente.
- Los detalles del medio ambiente, especímenes, técnicas, materiales y equipos deben considerarse en esta sección del artículo.
- Haga énfasis en hechos que sean nuevos.
- No entre en detalle cuando se trate de métodos estandarizados de investigación.
- Use citas de literatura si son pertinentes.
- Si un método estándar ya publicado ha sido modificado, describa la naturaleza de los cambios.
- Describa los métodos en la secuencia que va a describir los resultados.
- La primera vez que mencione un nombre científico utilice el binomial con el clasificador, ejemplo: *Coffea arabica* L.; de allí en adelante sólo use el género abreviado y escriba la especie, ejemplo: *C. arabica*.
- Siempre use el tiempo pasado.
- Defina técnicamente las variables y cómo se obtienen.
- Describa el diseño experimental o soporte estadístico, de acuerdo con el tipo de investigación.
- Describa el análisis de la información.
- Describa los criterios de decisión.

### **Resultados y discusión – Máximo 2.500 palabras**

En este capítulo se presentan los análisis y la interpretación de los datos obtenidos en la investigación, discutidos según los resultados anteriores. Como guías deben tenerse en cuenta las siguientes:

- Presente los datos en la secuencia abordada en la metodología.
- Use tablas o figuras (ilustraciones y gráficas).
- No repita los datos en distintas formas. O están en figuras o en las tablas o en el texto.
- Si el contenido total de la tabla puede ser descrito con claridad en el texto, no la presente. La tabla debe contener, al menos una medida de tendencia central, una medida de dispersión o intervalo de confianza, si requiere la prueba de comparación estadística. Al pie de la tabla indicar la prueba de comparación, con su nivel de significación y la descripción de las abreviaturas utilizadas en ella.
- Utilice la figura para ilustrar en forma rápida un resultado complejo.
- En el caso de ilustrar promedios, utilice los intervalos de confianza. No incluya en las figuras los datos de promedios ni las letras asociadas a la prueba de comparación.



- En una misma figura no incluya dos variables dependientes diferentes. Utilice correctamente el plano cartesiano.
- Las descripciones de figuras y tablas deben contener la información suficiente para entender los resultados descritos en ellas, sin tener que acudir al texto.
- El mensaje central debe ser suficientemente claro.
- Indique la aplicación de los resultados.
- Interprete los resultados.
- Discuta hechos controversiales con objetividad.
- Permítale al lector seguir su línea de pensamiento.
- Identifique resultados que abran nuevas posibilidades de estudio.
- No se sienta obligado a escribir una explicación positiva para cada faceta del estudio.
- Nunca utilice “se necesita hacer más trabajo...”
- No haga discusión trivial.

### **Agradecimientos - Máximo 70 palabras**

Con esta sección se pretende abrir un espacio lo suficientemente notable para que se tengan en cuenta las personas que con sus aportes colaboraron a guiar o desarrollar las investigaciones o a redactar y revisar el manuscrito que se somete a consideración, y que de no existir una sección como ésta, el autor en ocasiones se ve forzado a considerarlas como coautoras del artículo. Además, debe incluir la fuente de financiación de la investigación que originó el artículo, como el código de la misma.

### **Literatura citada**

- Se deben colocar en esta Sección sólo las referencias citadas. No más de 50 citas bibliográficas.
- La literatura se debe organizar en estricto orden alfabético.
- Las referencias deben citarse en el texto utilizando las normas APA.

### **PRODUCCIÓN EDITORIAL**

Secretaría Técnica Comité Editorial,  
revisión de textos y corrección de estilo: Sandra Milena Marín López, Ing. Agrónomo M.Sc.

Diseño y diagramación: Luz Adriana Álvarez Monsalve, Diseñadora Visual

Fotografías: Archivo Cenicafé

Impresión:

300 ejemplares

Para canjes con esta publicación dirigirse a:  
Centro de Documentación  
Centro Nacional de Investigaciones de Café - Cenicafé  
Manizales - Caldas - Colombia  
[Biblioteca.Cenicafe@cafedecolombia.com](mailto:Biblioteca.Cenicafe@cafedecolombia.com)



**Cenicafé**

*Al servicio de los caficultores colombianos, desde 1938*

**[www.cenicafe.org](http://www.cenicafe.org)**

---

La Revista Cenicafé se encuentra indizada y referenciada  
en Google Académico.