

## Impacto del Biocarbón y Microorganismos en la Resiliencia de Almácigos de Café al Estrés Hídrico y Enfermedades Impact of Biochar and Microorganisms on Coffee Seedlings Resilience to Water Stress and Diseases

Eduardo Alvarado-Picado<sup>1</sup> , Karolina Villagra-Mendoza<sup>2†</sup> ,  
Jason Pérez<sup>3</sup>  y Federico Masís-Meléndez<sup>4</sup> 

<sup>1</sup> Instituto Tecnológico de Costa Rica; (E.A.P.). <sup>2</sup> Centro de Investigación y Extensión en Tecnología e Ingeniería Agrícola (CETIA), Escuela de Ingeniería Agrícola; (K.V.M.). <sup>3</sup> Escuela de Biología; (J.P.). <sup>4</sup> Centro de Investigación y de Servicios Químicos y Microbiológicos (CEQIATEC), Escuela de Química; (F.M.M.). 800 m Sur de Basílica de Los Ángeles, Barrio Los Ángeles. 30101 cantón de Cartago, Cartago, Costa Rica.

† Autora para correspondencia: kvillagra@itcr.ac.cr

### RESUMEN

El impacto del calentamiento global sobre el cultivo de café ha hecho necesario buscar estrategias para promover plantaciones resilientes ante los cada vez más frecuentes e intensos periodos de sequía. Este estudio evaluó la incorporación de biocarbón y microorganismos en un almácigo de café para comprobar la resistencia de las plantas a enfermedades y al estrés hídrico. Se realizó un ensayo de parcelas subdivididas al azar con riego normal e interrumpido, con diferentes combinaciones de biocarbón y microorganismos, utilizando cuatro variedades de café. Las variables de respuesta fueron, altura de plantas, peso fresco, área foliar, nutrientes, incidencia y severidad de enfermedades, y las propiedades fisicoquímicas del suelo. Al incorporar biocarbón con microorganismos, las plantas bajo estrés hídrico no aumentaron su desarrollo radicular con respecto a los otros tratamientos, pero si se encontraron diferencias entre 6 a 8 cm en altura, de hasta 3.0 veces más masa foliar entre variedades, y mayor equilibrio nutricional a nivel foliar. La incidencia de enfermedades no disminuyó, pero si la severidad. La variedad Obatá con la combinación de biocarbón y microorganismos mostró una mejor respuesta al crecimiento bajo condiciones de estrés hídrico con respecto al control y una menor severidad. Además, la aplicación del biocarbón y microorganismos en el suelo, disminuyó la acidez, aumentó la capacidad de intercambio catiónico, conductividad eléctrica, relación carbono/nitrógeno, mejoró los niveles de fósforo y disminuyó los de hierro. Por lo tanto, la aplicación de biocarbón y microorganismos, puede ser una estrategia por considerar para el manejo de almácigos de café para mejorar su crecimiento y resistencia al estrés hídrico.

**Palabras clave:** *Coffea arábica*, propiedades físicoquímicas del suelo, propiedades fisiológicas, resistencia del cultivo, riego.

### SUMMARY

The impact of global warming on coffee crops has made it necessary to seek strategies that promote resilient plantations capable of withstanding increasingly frequent and intense drought periods. This study evaluated the incorporation of biochar and microorganisms in coffee seedlings to assess the resistance of plants to diseases and water stress. The trial was conducted in randomly subdivided plots with normal and interrupted irrigation, different combinations of biochar and microorganisms, and four coffee varieties. The response variables included plant height, fresh weight, leaf area, nutrient content, disease incidence and severity, and soil physicochemical properties. By incorporating biochar with microorganisms,



#### Cita recomendada:

Alvarado-Picado, E., Villagra-Mendoza, K., Pérez, J., & Masís-Meléndez, F. (2025). Impacto del Biocarbón y Microorganismos en la Resiliencia de Almácigos de Café al Estrés Hídrico y Enfermedades. *Terra Latinoamericana*, 43, 1-20. e2055. <https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2055>

Recibido: 13 de agosto de 2024.  
Aceptado: 5 de junio de 2025.  
Artículo. Volumen 43.  
Octubre de 2025.

Editor de Sección:  
Dra. Silvana Vero Méndez

Editor Técnico:  
Dr. David Cristóbal Acevedo



**Copyright:** © 2025 by the authors.  
Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC ND) License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

plants under water stress did not increase their root development compared with the other treatments; however, differences of 6 to 8 cm in height were observed, with up to three times more biomass among varieties and greater nutritional balance at the leaf level. Although the incidence of diseases did not decrease, their severity was reduced. The Obatá variety, with the combination of biochar and microorganisms, showed better growth performance under water stress conditions compared with the control, as well as lower disease severity. In addition, the application of biochar and microorganisms to the soil reduced acidity, increased cation exchange capacity, electrical conductivity, and the carbon/nitrogen ratio, improved phosphorus levels, and decreased iron content. Therefore, the application of biochar and microorganisms may be considered a potential strategy for managing coffee seedlings to enhance their growth and resistance to water stress.

**Index words:** *Coffea arabica*, soil physical-chemical properties, physiological properties, crop resistance, irrigation.

## INTRODUCCIÓN

Los fenómenos producidos por el cambio climático a nivel mundial en relación con el aumento de la temperatura y los cambios en las precipitaciones pueden generar deficiencias hídricas en los suelos, lo que a su vez repercute en el rendimiento y la capacidad para enfrentar adversidades ante plagas y enfermedades (Eze *et al.*, 2022).

En Costa Rica la producción de café ha sido una actividad agrícola clave desde hace más de 200 años, y fue considerada la actividad socioeconómica más importante hasta hace unos 20 años, aun así, se estima que hay más de setenta mil hectáreas dedicadas al cultivo de café en diferentes regiones productivas del país del cual dependen más de cincuenta mil familias (Murillo y Badilla, 2022).

Con el cambio climático, los problemas en el manejo sostenible para el cultivo de café se acrecientan. Según Viguera, Alpízar, Harvey, Martínez y Saborío (2019), existe evidencia de cambios en los patrones de lluvia intensa y sequías provocando el aumento de enfermedades en el café, así como la degradación de los suelos.

Debido al calentamiento global y los efectos del fenómeno climático de El Niño-Oscilación del Sur se esperan épocas secas marcadas y prolongadas, así como eventos de mayor intensidad durante la época lluviosa (IMN, 2015). En el cultivo del café, estos escenarios afectan principalmente a las plantas nuevas que son sembradas en el campo, las cuales a menudo no sobreviven por condiciones de sequía (ICAFE, 2020).

Para enfrentar el estrés hídrico, se utilizan diferentes estrategias agroecológicas, como la diversificación de los cultivos, el mantenimiento de la diversidad genética de la zona, la integración de animales, incorporación de materia orgánica en los suelos, y la cosecha de agua (Nicholls y Altieri, 2019). Para promover la humedad del suelo y reducir el estrés hídrico, también se ha sugerido el uso de hidrogeles (Neto *et al.*, 2017) y de ácido acetilsalicílico para la producción de elicitores (Furtado, Borges, Amorim y Matos, 2020).

El uso del biocarbón en la agricultura ha mostrado efectos en la retención de la humedad y nutrientes de los suelos (Lehmann *et al.*, 2003), en la sanidad y productividad del suelo (Zonayet *et al.*, 2023), en la fertilidad del suelo (Herrera *et al.*, 2018), en la capacidad para secuestrar carbono en el suelo (Escalante-Rebolledo *et al.*, 2016), en la actividad biológica del suelo (Kuryntseva, Galieva, Pavlova, Galitskaya y Selivanovskaya, 2023), y en el rendimiento de los cultivos (Gurwick, Moore, Kelly y Elias, 2013; Singh, Camps y Lehmann, 2017), por lo tanto, se ha convertido en una opción prometedora para el manejo de los cultivos ante condiciones de clima adversos en suelos degradados (Gurwick *et al.*, 2013). La alta porosidad y área específica superficial del biocarbón, le permite ser utilizado para diversas aplicaciones, como en el tratamiento de aguas residuales y la recuperación de suelos (Leng *et al.*, 2021). Asimismo, las enmiendas de biocarbón incrementan el pH y las comunidades bacterianas y micorrízicas benéficas, permitiendo el aumento de la retención de agua del suelo, mejorando la capacidad de intercambio catiónico, así como los fitonutrientes (Lozano y Afanasjeva, 2023).

Por otra parte, el uso de microorganismos benéficos como hongos, bacterias y levaduras ha demostrado ser beneficioso para el desarrollo de las plantas de café, principalmente al propiciar un mejor desarrollo radicular, y una mayor capacidad de absorción de nutrientes por parte del cultivo, creando plantas mejor preparadas para resistir el estrés hídrico (Chukwudi, Babalola, Glick, Santoyo y Rigobelo, 2025).

A pesar de que algunas investigaciones han reportado beneficios en la incorporación de biocarbón en las aplicaciones de microorganismos y biofertilizantes en diferentes cultivos (Gao y DeLuca, 2020; Da Silva *et al.*, 2022), existe muy poca información sobre la aplicación combinada de biocarbón y microorganismos en almácigos de café (Sánchez-Reinoso, Colmenares, Lombardini y Restrepo, 2023; Cargua-Chávez, Luna, González, Cedeño y Cedeño, 2022).

Este estudio evaluó el uso de una enmienda de biocarbón y de microorganismos en plantas de almácigo de café, bajo dos esquemas de riego, para determinar: i) el efecto sobre el desarrollo de las plantas en cuanto a altura, desarrollo foliar y biomasa; y ii) la resiliencia de las plantas ante enfermedades en términos de incidencia y severidad. Se partió de la hipótesis de que la aplicación de biocarbón y de microorganismos en plántulas de café en almácigo, genera un mejor desarrollo y resistencia ante el estrés hídrico, así como menos afectación por enfermedades, siendo una buena estrategia de manejo para tener plantas más resilientes y preparadas para épocas donde la disponibilidad hídrica sea una limitante.

## MATERIALES Y MÉTODOS

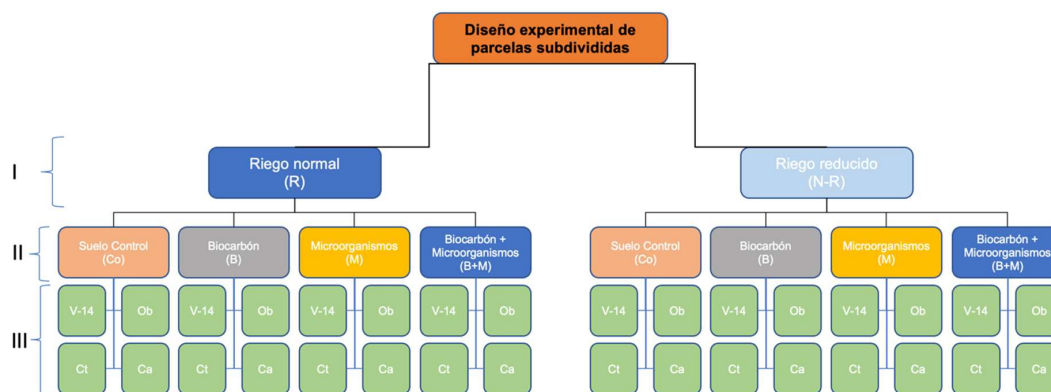
### Ubicación y Caracterización del Lugar de Estudio

El experimento se llevó a cabo en un vivero de una finca de café, del cantón de Tarrazú, San José, a 1450 m de altitud en las coordenadas WGS-84, 09° 65' 67.28" N, 84° 02' 45.11" O. Los datos de clima se obtuvieron de una estación meteorológica ubicada a 5 km del vivero, y con base en los datos de precipitaciones, se identificó un patrón faltante de lluvias entre los meses de julio y agosto entre los años del 2015 al 2021.

### Diseño Experimental

Se estableció un diseño de parcelas subdivididas (Figura 1), para evaluar el efecto de dos niveles de riego (nivel I), y cuatro tratamientos de suelo (II) en cuatro variedades de café (III). El factor I consistió en parcelas con riego (R) y riego reducido (N-R). Cada parcela se subdividió en cuatro subparcelas (II), suelo control (Co), biocarbón (B), microorganismos (M) y biocarbón + microorganismos (B+M). Dentro de cada subparcela se sembraron aleatoriamente las cuatro variedades de café (C), Victoria 14 (V14), Obatá (Ob), Catucaí (Ct), y Catuaí Amarillo (Ca). Se establecieron 480 plantas, 2 parcelas, 4 subparcelas (triplicado), 4 variedades y 5 plantas por variedad subparcela. El ensayo duró 40 semanas.

El esquema de riego consistió en aplicar 750 mL planta<sup>-1</sup> semana<sup>-1</sup>, dividido en tres riegos de 250 mL, desde la semana 1 a la semana 25. Para la parcela R se mantuvo el riego hasta la semana 40. Para la parcela N-R se redujo el riego a 250 mL planta<sup>-1</sup> semana<sup>-1</sup> (1 vez por semana), desde la semana 26 a la semana 38, continuando con la eliminación total del riego hasta la semana 40. El esquema de riego normal se basó en la capacidad de campo del sustrato y el modelo de tres riegos semanales aplicado por los productores de café en la zona de estudio. El esquema de riego reducido se basó, en el historial de 6 años de precipitaciones, se escogieron los periodos sin precipitaciones más extensos -correspondientes a junio, julio y agosto-, y se calculó la disminución de precipitación con respecto al escenario de cambio climático SSP5, según lo proyectado por Almazroui *et al.* (2021) para los Estados Unidos, Centroamérica y el Caribe.



**Figura 1. Esquema del diseño experimental de parcelas subdivididas, con dos patrones de riego (nivel I), 4 tratamientos (nivel II), y cuatro variedades de café (nivel III).**

**Figure 1. Scheme of the experimental design of subdivided plots, with two irrigation patterns (level I), 4 treatments (level II), and four coffee varieties (level III).**

Todas las plantas recibieron 2 g cada una del fertilizante Hidrocomplex® (YaraMila) el cual contiene 12.4% nitrógeno (N) (en forma de N nítrico 5.1%, N amoniacal 7.3%), 11.4% fósforo (P) (como pentóxido de fósforo P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), 17.7% potasio (K) (como óxido de potasio K<sub>2</sub>O), 2.7% óxido de magnesio (MgO), 8% Azufre (S) 2.5% Trióxido de Azufre (SO<sub>3</sub>), 0.015% Boro (B), 0.35% Hierro (Fe), 0.02% Manganeseo (Mn), y 0.02% Zinc (Zn), diluido en 50 mL de agua, aplicado mediante empapado del suelo en las semanas 2, 9, 17 y 25 después del trasplante.

### Caracterización del Sustrato, Biocarbón y Microorganismos

Se utilizó un suelo, característico de la zona, utilizado para la producción de almácigos, de textura arcillosa (52% arcilla, 25% arena, 23% limo) según el sistema de clasificación de suelos de la FAO (Schad, 2023), obtenido a 20 cm de profundidad. Para la elaboración del sustrato, se incorporó un 10% (v/v) de granza de arroz al suelo, luego se mezcló con biocarbón al 5% (v/v) en una cubeta de 20 L, se tamizó a 5 mm, y se prepararon bolsas plásticas de sustrato para 1 litro.

Se utilizó biocarbón a partir de biomasa de leña de café (*Coffea arabica*) producido en un reactor construido con un barril metálico de 200 L durante 7 horas, con un rendimiento del 34%, en ausencia de oxígeno a una temperatura de 396 °C. El contenido de carbono (C), hidrógeno (H), nitrógeno (N), azufre (S), se determinaron con un analizador elemental (Marca Elemental modelo El Cube). El contenido de oxígeno (O) se calculó a partir de restar la suma de los elementos anteriores (CHNS) y el contenido de ceniza determinado por ignición al 100% (Cuadro 1). La densidad aparente (Da) del biocarbón se determinó a partir de la masa seca contenida en un volumen conocido correspondiente a una probeta graduada de 300 mL, se realizaron compresiones dejando caer la probeta 10 veces, luego se midió el volumen, este procedimiento se realizó por triplicado (EBC, 2025). El pH en agua y la conductividad eléctrica se midieron en proporción 1:10 de biocarbón: agua (desionizada), después se agitó por una hora. Se dejó reposar la muestra por 30 minutos y para las lecturas se utilizó un medidor de pH de electrodo y un potenciómetro. El agua retenida en el biocarbón se determinó por medio de la masa a 40 °C y la masa seca a 105 °C, utilizando la fórmula de contenido de humedad gravimétrica (Ecuación 1).

$$\frac{(MH - MS)}{MS} * 100 \quad (1)$$

Donde MH es la masa húmeda a 40 °C y MS es la masa seca a 105 °C, ambas en gramos.

El cóctel de microorganismos benéficos utilizados consistió en bacterias totales, bacterias fototróficas, *Lactobacillus*, Levaduras, y cepas de *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma rifaii* (Escudero-Leyva et al., 2022), correspondientes a los productos comerciales BioFecunda® (Hongos 4.0 × 10<sup>4</sup> UFC mL<sup>-1</sup>, Bacterias 9.4 × 10<sup>7</sup> UFC mL<sup>-1</sup>, y Levaduras 7.0 × 10<sup>3</sup> UFC mL<sup>-1</sup>) y TrichoFecunda® en polvo a base de *Trichoderma* spp. con 1.5 × 10<sup>9</sup> UFC g<sup>-1</sup> (ambos de CoopeTarrazú, Costa Rica). Ambos productos se aplicaron en la semana 1, 8, 16 y 24, donde para *Trichoderma* se diluyó una masa de 200 g en 200 L de agua y para los microorganismos se utilizó un volumen de 250 mililitros.

**Cuadro 1. Caracterización del biocarbón a base de leña de café.**  
**Table 1. Characterization of biochar based on coffee wood.**

Propiedades	Unidad	Valor
Carbono, C		80.35 ± 0.10
Hidrógeno, H		3.45 ± 0.12
Oxígeno, O	%	10.01 ± 0.75
Nitrógeno, N		1.02 ± 0.06
Azufre, S		0.07 ± 0.01
Cenizas		5.10 ± 0.54
C/N		78.93 ± 4.27
H/C	(-)	0.04 ± 0.00
O/C		0.12 ± 0.01
Densidad aparente, Da	g cm <sup>-3</sup>	0.38
pH	(-)	9.2
Conductividad eléctrica, CE	µS cm <sup>-2</sup>	990
Agua retenida a 40 °C	m m <sup>-1</sup>	2.4

La identificación de los microorganismos se realizó mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) de los microorganismos inoculados, lo cual se realizó en tres diferentes periodos diferentes del estudio: 1) un análisis inicial de conteo de microorganismos antes de aplicar los productos al suelo; 2) un análisis previo a las aplicaciones en cada semana 1, 8, 16 y 24; 3) al final del ensayo después de la recolección de las plantas. El conteo de microorganismos fue realizado por el Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) del Instituto Tecnológico de Costa Rica. Se realizaron diluciones con una relación 1:9 del producto comercial con respecto al agua estéril, se agitó y se repitió el procedimiento de dilución hasta 5 veces, posteriormente cada grupo de microorganismos se inoculó en placas, según el medio selectivo. Para cada grupo de microorganismos se realizaron tres réplicas. Los Lactobacillus totales se analizaron en el medio de cultivo Agar Lactobacillus M.R.S. (De Man, Rogosa y Sharpe, 1960; Ko *et al.* 2024) a 28 °C durante un periodo de 24 a 28 horas, realizando los recuentos en UFC por mL de producto (BioFecunda®). Las levaduras totales se cultivaron en el medio de cultivo de Agar de Dextrosa de Patata acidificado (PDA acidificado) (López-Courrau, Rivera, Brenes y Zúñiga, 2018) a 28 °C durante 48 horas, con recuentos expresados en UFC mL de producto (BioFecunda®). Las bacterias totales se evaluaron en un medio agar nutritivo (AN) y las bacterias fototróficas totales se incubaron en presencia de luz y se evaluaron en agua marina sintética (Imhoff, 2001) a 28 °C durante 4 días (96 horas), contabilizando en UFC por mL de producto (BioFecunda®). Los *Trichoderma* totales se analizaron en el medio de cultivo selectivo TSM (Elad, Chet y Henis, 1981) a 28 °C durante un periodo de 4 a 5 días (96 a 120 horas), con recuentos en UFC por gramo de producto (TrichoFecunda®). Pasado el tiempo de incubación específico para cada grupo de microorganismo, se realizaron conteos en cada una de las tres placas de cada grupo microbiológico, se contabilizaron los puntos donde se notaba el crecimiento de las colonias, se obtuvo la media ( $\bar{x}$ ) y se aplicó la siguiente ecuación (Ecuación 2).

$$UFC = \frac{\text{colonias enumeradas (X)}}{\text{mL inoculados} \cdot \text{factor de dilución}} \quad (2)$$

### Propiedades Físico-Químicas del Sustrato

El pH y conductividad eléctrica (CE) se determinaron directamente con un electrodo potenciómetro en una extracción en agua con una relación 1:2.5 (suelo:agua). Para la acidez intercambiable se utilizó el método propuesto por Sparks (1996), se extrajo el suelo en una solución de KCl 1M con una relación 1:10 y se hizo la titulación con NaOH 0.01M de Sigma Aldrich (Darmstadt, Alemania).

Los iones de Calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y Magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) se extrajeron siguiendo la metodología propuesta por Díaz-Romeu y Hunter (1978), con una solución KCl 1M en una relación 1:10 y se determinaron por espectrometría de emisión óptica de plasma inducido (ICP-OES). Para fósforo (P), se extrajo el suelo en una solución Olsen modificada con una relación 1:10 y se determinó en un analizador por inyección de flujo (FIA), de la misma extracción se determinó potasio ( $\text{K}^+$ ) utilizando un espectrómetro de absorción atómica con emisión de llama. La capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICE) se obtuvo de la suma de las bases intercambiables  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ .

La capacidad de campo (CC) se determinó a partir del contenido de humedad del sustrato a un potencial mátrico de -33 kPa, mientras que el punto de marchitez permanente (PMP) se obtuvo a -1500 kPa, ambos mediante la metodología de los platos de succión de Richards. Para el potencial mátrico de -33 kPa se utilizaron tres muestras no disturbadas en cilindros de acero inoxidable de aproximadamente 100 cm<sup>3</sup> previamente saturadas, en duplicado por tratamiento. Una vez determinada la masa para el potencial mátrico correspondiente, se secaron las muestras a 105 °C por 24 h. La masa seca obtenida se utilizó para calcular el contenido de humedad gravimétrico. El contenido de humedad volumétrico se calculó multiplicando el contenido de humedad gravimétrico por la densidad aparente de la muestra, la cual se determinó como la relación de la masa seca del suelo a 105 °C y el volumen ocupado por el cilindro. El contenido de humedad a -1500 kPa se obtuvo en una olla de presión de Richards de 15 bar, empleando anillos de 1 cm de altura, en triplicado, con muestras disturbadas, previamente tamizadas a 2 mm. El agua disponible para las plantas (AD) se calculó como la diferencia entre CC y PMP. Por su parte, la capacidad del aire (AC) se determinó de la diferencia del contenido de humedad a saturación (equivalente a la porosidad total) y la capacidad de campo (CC).

La conductividad hidráulica saturada ( $K_s$ ) se calculó usando la Ley de Darcy (Ecuación 3) para un flujo unidimensional vertical con el método de carga constante (Klute, 1986):

$$q = -K_s \frac{dH}{dz} \quad (3)$$

Donde  $q$  es el flujo específico en m/s (volumen que pasa a través de una unidad de área transversal del suelo en m<sup>2</sup> en una unidad de tiempo en segundos),  $dH/dz$  es el gradiente del nivel hidráulico  $H$ , y  $K_s$  es la conductividad hidráulica en metros por segundo.



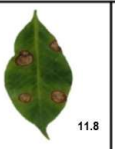

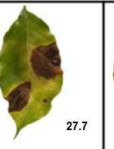
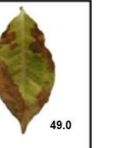




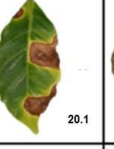
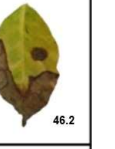


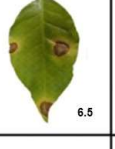
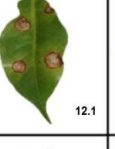

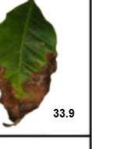
## Caracterización del Cultivo

El peso de cada planta se registró al momento del trasplante utilizando una balanza granataria digital expresado en gramos, y la altura se midió desde la base del tallo hasta el ápice superior donde inicia el último par de hojas, utilizando una cinta métrica. Al final del experimento se lavaron las raíces y se midió la altura de la misma forma. La masa fresca aérea y de raíz se determinaron al final del ensayo por separado y después de la limpieza de los excesos de sustrato. La masa fresca total se obtuvo de la suma de la masa aérea y de raíz. El área foliar se determinó al final del experimento y antes de ser deshidratadas usando el software Image J®, versión 1.46dd/ (Abràmoff, Magalhães y Ram, 2004; Rasband, 2018; Schneider, Rasband y Eliceiri, 2012). Las hojas de cada una de las plantas fueron montadas y fotografiadas sobre una cartulina blanca con cuatro puntos equidistantes distanciados uno del otro a 10 cm. Para el análisis foliar, el nitrógeno se determinó con un auto-analizador basado en el principio de DUMAS. Los elementos Ca, Mg, P, K, S, Fe, Cu, Zn, Mn y B, se determinaron en ICP-OES luego de una digestión en ácido. Se utilizó el índice de DRIS (Diagnosis and Recommendation Integrated System) para analizar el equilibrio de cada nutriente con respecto a los demás, según Rodríguez y Rodríguez (2000). El índice de DRIS se interpreta con el valor cero siendo el nivel deseable del nutriente en cuestión, valores positivos indican un exceso del nutriente en relación con los otros y, niveles negativos indican una deficiencia del nutriente analizado con respecto a los demás (Arizaleta, Rodríguez y Rodríguez, 2002). La Incidencia de enfermedades se cuantificó por medio de la fórmula (Ecuación 4).

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{número de plantas con síntomas}}{\text{número total de plantas}} * 100 \quad (4)$$

Para determinar la severidad de enfermedades, se utilizó como guía la escala diagramática desarrollada por Custódio *et al.* (2011) basada en 6 niveles, según el grado de afectación en el tejido foliar afectado (Figura 2). Para este estudio, se asignó un solo nivel por planta según su grado de afectación y se modificó incluyendo las plantas muertas por la enfermedad como si correspondiera al nivel 6.

Después del sexto mes del ensayo se presentó una afectación generalizada en las plantas por la enfermedad conocida como "mancha de hierro" o Cercospora, causada por el hongo *Cercospora coffeicola* (Mykobank, 2023). La enfermedad se caracteriza por presentar manchas circulares o irregulares de color pardo claro o marrón, que pueden estar rodeadas por un halo de color amarillo (Rengifo, Leguizamon y Riaño, 2002). Por lo tanto, ante esta afectación no se realizó ninguna aplicación de fungicidas sintéticos, para cuantificar la incidencia o severidad en los tratamientos y variedades.

					
					
					
Nivel 1 0,1-3%	Nivel 2 3,1-6,0%	Nivel 3 6,1-12%	Nivel 4 12,1-18%	Nivel 5 18,1-30%	Nivel 6 30,1-50%

**Figura 2. Escala para la determinación de severidad de la enfermedad conocida como mancha de hierro causada por el agente patógeno *Cercospora coffeicola*.** Adaptado de: Custódio *et al.* (2011).

**Figure 2. Scale for determining the severity of the disease known as iron spot caused by the pathogen *Cercospora coffeicola*.** Adapted from: Custódio *et al.* (2011).

## Análisis Estadístico

El modelo de análisis de regresión lineal se fundamentó en dos protocolos de aleatorización: parcelas (basado en el riego) y en subparcelas (tratamientos), siendo la unidad experimental para la parcela las cuatro variedades de café, y para las subparcelas cada una de las plantas del ensayo. Por consiguiente, los análisis de la varianza, para las variables, se realizaron de acuerdo con el modelo lineal mixto obtenido a partir del análisis de cada caso. Debido a los diferentes grados de libertad de las interacciones para cada variable, se calculó la interacción a partir de los factores anidados (riego, tratamiento, variedad). En consecuencia, se analizaron distintos modelos de forma secuencial, primero el modelo de efectos mixtos para el análisis con factores anidados, luego el modelo considerando la interacción de los tres factores; y finalmente, la comparación de medias, que se basó en el cálculo de las diferencias por pares de las medias de los cuadrados mínimos, basado en una distribución t. El análisis se llevó a cabo con el software R versión 4.2.3 (R Core Team, 2024).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Propiedades Químicas de los Sustratos

El Cuadro 2 muestra las propiedades químicas del suelo para los tratamientos de Co, B, M y B+M. La acidez del tratamiento B bajó a la mitad con respecto a Co, este efecto enalante del biocarbón se debe a los grupos funcionales fenólicos, carboxilo e hidroxilo, que reducen la concentración de iones  $H_3O^+$  y aumentan el pH del suelo (Qian, Kumar, Zhang, Bellmer y Huhnke, 2015). Por su parte, los niveles de  $Ca^{2+}$  se acentuaron al final del ensayo en B+M, y los niveles de  $Mg^{2+}$  y  $K^+$  se incrementaron en los tratamientos M y B+M. La CICE aumentó al final del ensayo en el tratamiento B, contrario al tratamiento M, y en mayor magnitud en B+M; esto coincide con lo publicado por Escalante-Rebolledo *et al.* (2016) quienes indicaron que la capacidad de intercambio catiónico en el biocarbón aumenta debido a una mayor área superficial y carga negativa y a una mayor densidad de carga, lo que hace que el material tenga mayor reactividad en los suelos. Estos mismos autores relacionaron la capacidad de intercambio catiónico (CIC) alta de los materiales con pH alcalinos y lo contrario, CIC bajas con pH más bajos, esto puede explicar la leve modificación al alza del pH donde se aplicó biocarbón, aunque esa aplicación fue muy baja en relación con la masa/masa del sustrato. Los niveles de P aumentaron, pero solo en la etapa final, donde se aplicó biocarbón, posiblemente por una mineralización en el tiempo, esto se podría relacionar con la disponibilidad de P que tiende a incrementarse con la aplicación de ciertos microorganismos solubilizadores (Cisneros, Franco, Realpe y Fuenmayor, 2017). La conductividad eléctrica y la relación C/N aumentaron con la

**Cuadro 2. Propiedades químicas del sustrato para los tratamientos de Control (Co), Biocarbón (B), Microorganismos (M), y Biocarbón con Microorganismos (B+M).**

**Table 2. Chemical properties of the substrate for the Control (Co), Biochar (B), Microorganisms (M), and Biochar with Microorganisms (B+M) treatments.**

Tratamiento	pH	Acidez	Ca	Mg	K	CICE	P	CE	C/N
			cmol(+) L <sup>-1</sup>				Mg L <sup>-1</sup>	mS cm <sup>-1</sup>	
Rango recomendado	5.0-6.0	0.5-1.5	3.0-8.0	0.8-2.0	0.2-0.4	2-10	10-20	0.8-1.6	12-25
Co	Inicio	5.1	2.66	0.64	0.94	5.58	4	0.2	12.7
	Final	4.6	4.37	0.91	1.13	8.01	17	0.8	11.4
B	Inicio	5.5	3.22	0.69	1.31	5.75	7	0.3	22.7
	Final	4.8	6.06	1.18	1.39	9.27	28	1.1	15.3
M	Inicio	5.1	4.37*	0.91*	1.13*	8.01*	17*	0.8*	11.4*
	Final	4.7	3.88	1.15	1.11	7.56	18	0.9	13.1
B+M	Inicio	5.5	3.22**	0.69**	1.31**	5.75**	7**	0.3**	22.7**
	Final	4.9	6.25	1.59	1.25	9.71	41	1.1	17.0

\* Valores iniciales del tratamiento M iguales a Co.

\*\* Valores iniciales del tratamiento B+M iguales a B.

incorporación de biocarbón, pero se mantuvo más alto en el tratamiento B+M, de acuerdo con Gamarra-Lezcano, Díaz, Vera, Galeano y Cabrera (2018) la relación óptima oscila entre 10 y 14 para favorecer la mineralización de los nutrientes y eficiente descomposición de la materia orgánica, valores mayores a 15 en la relación C/N pueden producir la inmovilización de N por parte de los microorganismos, lo que limitaría la absorción por las plantas.

### Análisis de las Propiedades Físicas del Sustrato para todos los Tratamientos

El Cuadro 3 muestra las propiedades físicas e hidráulicas de los sustratos para los tratamientos Co, B, M, y B+M. La densidad aparente (Da) no mostró diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo, se evidencia una tendencia a una menor Da en los tratamientos con biocarbón, lo que coincide con la formación de mayor porosidad, especialmente macroporos, que aumentan los valores de capacidad del aire (AC) en los tratamientos (Villagra-Mendoza y Horn, 2018) y por lo tanto mejora la aireación en el sustrato. El agua disponible para las plantas (AD) no mostró una clara tendencia entre los tratamientos, pero si se observó un menor valor para los tratamientos con biocarbón. Esto se ha reportado en estudios con suelos enmendados con biocarbón, donde AD suele disminuir por un aumento en el contenido de humedad en PMP por la formación de mayor microporosidad o por una disminución del contenido de humedad en potenciales mátricos cercanos a CC, debido a la reducción de poros capilares (Villagra-Mendoza *et al.*, 2021).

La conductividad hidráulica (Ks) mostró los valores más bajos en los tratamientos Co y M, siendo estos estadísticamente similares, y diferentes a los tratamientos B y B+M. Según la revisión realizada por Jiang *et al.* (2025) el cambio en las propiedades hidráulicas del suelo se encuentra influenciado por el grado de la aplicación en que coinciden las texturas del suelo y el biocarbón. La mejora de Ks en los tratamientos con biocarbón, se pudo deber a una mejora en la distribución de la porosidad del sustrato y a la incorporación de formas diferentes de las partículas del biocarbón (con respecto a las de las arcillas) que promovieron la formación e interconectividad del espacio poroso (Villagra-Mendoza y Horn, 2018).

### Análisis Microbiológico de los Sustratos

El Cuadro 4 muestra la concentración de microorganismos detectada antes y posterior a la dilución. Las variaciones encontradas entre lo declarado en las etiquetas de los productos comerciales y los análisis de laboratorio por ejemplo, la etiqueta del producto con *Trichoderma* spp, declaraba  $1.5 \times 10^9$  UFC y el análisis microbiológico indicó  $4.57 \times 10^7$  UFC, mientras que con el Biofecunda se encontró un aumento fuerte en levaduras y leve en bacterias totales (Cuadro 4), puede haber sido causada por la alta sensibilidad de microorganismos como *Trichoderma*, levaduras y bacterias a factores ambientales durante el almacenamiento. Altas temperaturas, variaciones en la humedad y exposición a la luz ultravioleta pueden causar una disminución significativa en las unidades formadoras de colonias (UFC). Según Daryaei, Jones, Ghazalibiglar, Glare y Falloon (2016), el almacenamiento a temperaturas elevadas puede afectar la viabilidad de *Trichoderma atroviride* en productos comerciales, afectando su eficacia biocontroladora. Asimismo, Berninger, González, Bejarano, Preininger y Sessitsch (2018) reportaron cambios

**Cuadro 3. Propiedades físicas e hídricas del sustrato para los tratamientos de Control (Co), Biocarbón (B), Microorganismos (M), y Biocarbón con Microorganismos (B+M).**

**Table 3. Physical and hydric properties of the substrate for the Control (Co), Biochar (B), Microorganisms (M), and Biochar with Microorganisms (B+M) treatments.**

Tratamiento	Da	Ks	CC	PMP	AC	AD
	g cm <sup>-3</sup>	cm día <sup>-1</sup>			vol-%	
Co	0.97 ± 0.08 a	174.97 ± 81.6 a	41.29 ± 0.28 a	28.58 ± 0.30	22.36 ± 2.84	12.42 ± 0.02
B	0.85 ± 0.01 a	465.82 ± 112.5 b	40.18 ± 2.87 a	26.01 ± 0.35	30.70 ± 2.38	11.30 ± 2.51
M	1.00 ± 0.04 a	156.79 ± 67.5 a	48.24 ± 2.70 a	31.18 ± 0.35	16.68 ± 1.30	14.36 ± 2.35
B+M	0.82 ± 0.08 a	513.54 ± 160.7 b	39.30 ± 3.03 a	28.48 ± 1.57	32.84 ± 0.12	7.79 ± 1.47

Da = densidad aparente; Ks = conductividad hidráulica; CC = capacidad de campo; PMP = punto de marchitez permanente; AC = capacidad del aire del suelo; AD = agua disponible en el suelo. Variables con la misma letra significa que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

Da = bulk density; Ks = hydraulic conductivity; CC = field capacity; PMP = permanent wilting point; AC = soil air capacity; AD = soil available water. Variables with the same letter indicate that there are no significant differences ( $p < 0.05$ ).



**Cuadro 4. Unidades formadoras de colonias (UFC) detectadas en los análisis iniciales de los microorganismos utilizados en el experimento, así como la concentración de microorganismos en dilución que se inoculó en las plantas en la semana de aplicación correspondiente.**

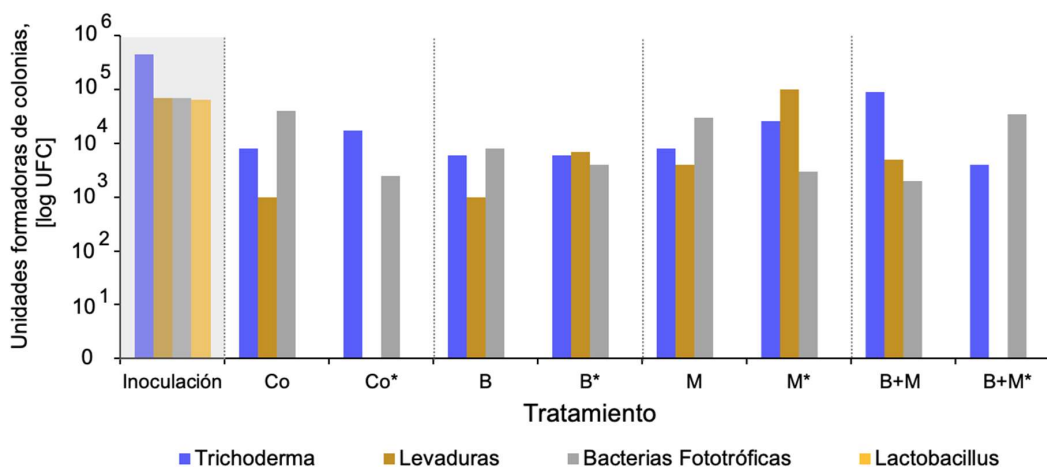
**Table 4. Colony forming units (CFU) detected in the initial analyzes of microorganisms used in the experiment, as well as the concentration of microorganisms in dilution inoculated into 30 plants in the corresponding week of application.**

Microorganismo	Unidad de concentración	Unidades formadoras de colonias (UFC)	
		Iniciales	En dilución
<i>Trichoderma</i>	UCF g <sup>-1</sup>	4.57 × 10 <sup>7</sup>	4.57 × 10 <sup>5</sup>
Bacterias totales		8.30 × 10 <sup>7</sup>	1.04 × 10 <sup>6</sup>
<i>Lactobacillus</i>		5.27 × 10 <sup>6</sup>	6.58 × 10 <sup>4</sup>
Levaduras	UFC mL <sup>-1</sup>	5.55 × 10 <sup>6</sup>	6.93 × 10 <sup>4</sup>
Bacterias fototróficas		5.50 × 10 <sup>6</sup>	6.88 × 10 <sup>4</sup>

importantes en la viabilidad de las colonias de bacterias de muchos biofertilizantes ya que estos microorganismos son susceptibles a períodos prolongados de almacenamiento y a factores ambientales perjudiciales, lo que impacta negativamente su viabilidad. Aloo, Mbega, Makumba y Tumuhairwe (2022), concluyeron que muchos microorganismos presentes en biofertilizantes tienen a disminuir principalmente, por factores de temperaturas y de acuerdo con los materiales de soporte, esta pérdida de UFC es un factor común y las causas son muy variables.

A pesar de que, este estudio no intenta profundizar en la formulación de los productos biológicos, es importante entender la importancia que las formulaciones tienen en la estabilidad de los microorganismos. Yadav y Yadav (2024) abordaron el tema de la calidad de los biofertilizantes y las frecuentes variaciones de las UFC en muchos productos analizados y recomendaron la encapsulación de la suspensión microbiana para mejorar la estabilidad y viabilidad de los biofertilizantes.

En la Figura 3 se muestra la concentración de microorganismos en los tratamientos. Después de la inoculación, los microorganismos se recuperaron en todos los tratamientos (excepto los *Lactobacillus*). A pesar de que no se realizaron análisis de referencia al inicio del ensayo para conocer estas poblaciones, se sabe que estos grupos están presentes de forma natural en los suelos (Feijoo, 2016), por lo que los niveles encontrados en el tratamiento Co se tomaron como los niveles propios del suelo utilizado. En B+M con riego el nivel de UFC por gramo de suelo de *Trichoderma* spp. fue de aproximadamente  $1 \times 10^5$ , coincidiendo con los aumentos en las características foliares medidas en las plantas, independientemente de las variedades de café utilizadas en el ensayo.



**Figura 3. Unidades formadoras de colonias (UFC gramo de suelo<sup>-1</sup>) inoculadas y recuperadas en los sustratos de los diferentes tratamientos al final del ensayo, para los tratamientos Control (Co), Microorganismos (M), Biocarbón (B), Biocarbón + Microorganismos (B+M). Los tratamientos con asterisco (\*) corresponden a los tratamientos sometidos a estrés hídrico.**

**Figure 3. Colony-forming units (CFU g<sup>-1</sup> soil) inoculated and recovered from the substrates of the different treatments at the end of the experiment, for the Control (Co), Microorganisms (M), Biochar (B), and Biochar + Microorganisms (B+M) treatments. Treatments marked with an asterisk (\*) correspond to those subjected to water stress.**

Esto concuerda con Donoso, Lobos y Rojas (2008), quienes encontraron mayor desarrollo foliar y resistencia a enfermedades en plántulas de pino (*Pinus radiata*), al aplicar *Trichoderma harzianum*, y relacionaron el mayor desarrollo de la biomasa en las plantas a los efectos de la estimulación de los mecanismos de defensa, junto con los mecanismos de control de patógenos en el suelo generados por diversas especies del género *Trichoderma*. Jiménez, de Albarracín, Altuna y Alcano (2011), comprobaron estos efectos de estimulación en plantas de tomate con la aplicación de *Trichoderma*. Así mismo, Hossain, Hasan, Uddain y Subramaniam (2020) reportaron que la combinación de *Trichoderma* y biocarbón aumentó el crecimiento del cultivo del tomate y mejoró la fertilidad del suelo promoviendo la absorción de nutrientes, así como el crecimiento hongos en la rizosfera y de poblaciones bacterianas. Las levaduras y bacterias fototróficas presentes también pudieron haber contribuido al crecimiento y mejor nutrición de las plantas de café. Las levaduras, por ejemplo, han sido asociadas con la producción de compuestos promotores del crecimiento vegetal, como auxinas, y con la movilización de nutrientes mediante la producción de sideróforos y ácidos orgánicos, que facilitan la absorción de hierro y fósforo (El-Saadony *et al.*, 2022). Estas interacciones microbianas no solo han mostrado el desarrollo radicular, sino que también fortalecen las defensas de la planta frente a condiciones adversas. Asimismo, las bacterias fototróficas han mostrado un alto potencial para fijar nitrógeno, solubilizar fósforo y generar sustancias bioactivas que estimulan la fotosíntesis, la formación de clorofila y la tolerancia al estrés abiótico (Wambacq *et al.*, 2022; Timofeeva, Galyamova y Sedykh, 2023). A pesar de que, este estudio no incluyó un análisis específico que permita diferenciar los efectos individuales de cada grupo microbiano, los resultados obtenidos en cuanto al equilibrio nutricional foliar y la ganancia de biomasa en los tratamientos M y B+M, sugieren que hubo una interacción positiva entre microorganismos y biocarbón. Esta sinergia podría haber potenciado los beneficios de cada grupo, amplificando su efecto en el crecimiento de las plantas y su resiliencia al estrés hídrico, tal como ha sido reportado en otros estudios con cocteles de inoculantes microbianos que incluyen bacterias, levaduras y hongos (Devi *et al.*, 2024; El-Saadony *et al.*, 2022).

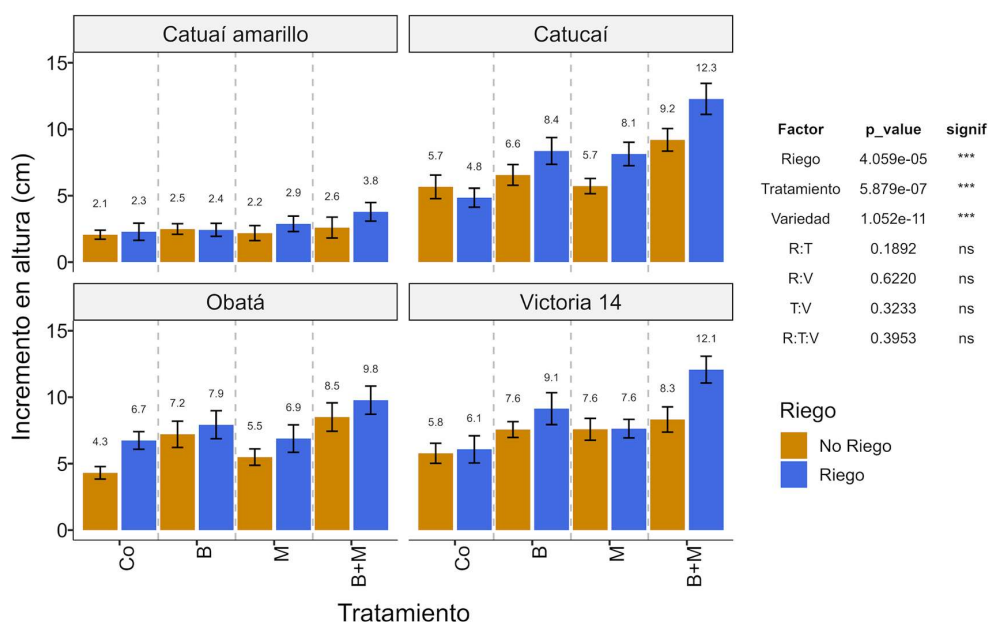
### Efecto de los Tratamientos y Patrones de Riego sobre el Cultivo

La Figura 4 muestra la respuesta de una variedad de café en almácigo a los cuatro tratamientos y diferenciándolos del patrón de riego (en recuadro rojo se ubican las plantas con déficit de riego, N-R). En crecimiento, las plantas del tratamiento Co tuvieron una respuesta heterogénea con respecto a la condición del riego, contrario a las plantas del tratamiento M las cuales mostraron un evidente crecimiento con la condición de riego R. Por otro lado, tanto las plantas de B y B+M, mostraron un crecimiento muy similar, y mayor que los tratamientos Co y M independientemente de la condición de riego aplicada R o N-R. A continuación, se detallan las características de las plantas que describen el comportamiento observado en la Figura 4.



**Figura 4. Crecimiento de una muestra de plantas de una de las variedades de café en almácigo con respecto a los cuatro tratamientos. En recuadro rojo se ubican las plantas sometidas a estrés (N-R).**  
**Figure 4. Growth of a sample of plants of one of the coffee varieties in the seedbed concerning the four treatments. The plants subjected to stress (N-R) are in the red box.**

**Altura.** Considerando la diferencia del incremento en la altura de las plantas entre el inicio y el final del ensayo, se observaron diferencias significativas entre el factor de riego (R) y no riego (N-R) así como entre los tratamientos (T) y las variedades de café (V) (Figura 5). Bajo las condiciones de N-R no se observaron diferencias significativas entre las variedades o tratamientos, excepto por la variedad Ca la cual mostró un menor crecimiento con respecto a las otras variedades. En las variedades V14 y Ct se observó un aumento significativo, y similar entre ellas, en la altura de las plantas bajo condiciones de riego (R) y en el tratamiento B+M con respecto a los otros tratamientos. Por otro lado, las variedades Ob y Ca no mostraron diferencias significativas bajo la condición de riego (R) entre los tratamientos estudiados. Siendo la variedad Ca la que mostró un crecimiento, significativamente menor, independientemente del riego aplicado para todos los tratamientos. El menor crecimiento de la variedad Ca se puede explicar porque, Ca es un cultivar altamente demandante en nutrientes, y posiblemente la fertilización dada a las otras variedades no resultó suficiente para esta (World Coffee Research, 2023). En la variedad Ct, bajo las condiciones de riego (R), las plantas del tratamiento B+M tuvieron, en promedio, una diferencia de altura de 7.5 cm con respecto a las plantas del tratamiento Co. Asimismo, las plantas de los tratamientos B y M tuvieron una altura promedio mayor de 3.6 y 3.3 cm, respectivamente; con respecto a Co. Por otro lado, bajo las condiciones de riego restringido (N-R), la diferencia de altura de las plantas de B+M se redujo a 3.5 cm, mientras que los otros tratamientos no llegaron a tener diferencias mayores a 1 cm. En la variedad V14 se observó un comportamiento similar a Ct, donde los tratamientos B+M y B con riego (R) tuvieron diferencias de altura de 6 y 3 cm, respectivamente; y bajo el riego N-R las diferencias se redujeron a la mitad. A pesar de que bajo condiciones de riego (R) y para B+M y B, las plantas de las variedades Catucaí (Ct) y Victoria 14 (V14) tuvieron un mayor incremento en altura comparado a las plantas de la variedad Obatá (Ob), las últimas mostraron una mayor resiliencia en el crecimiento al enfrentarse a condiciones de riego deficiente (N-R). Esto se reflejó en diferencias de altura, para la variedad Ob, de un 35% y un 140% para los tratamientos B+M y B, respectivamente; en condiciones restringidas de riego (N-R). El efecto positivo en aumento de altura en los tratamientos B+M y B, coincide por lo reportado por Hossain *et al.* (2020), quienes indicaron mejoras en el crecimiento de plantas de



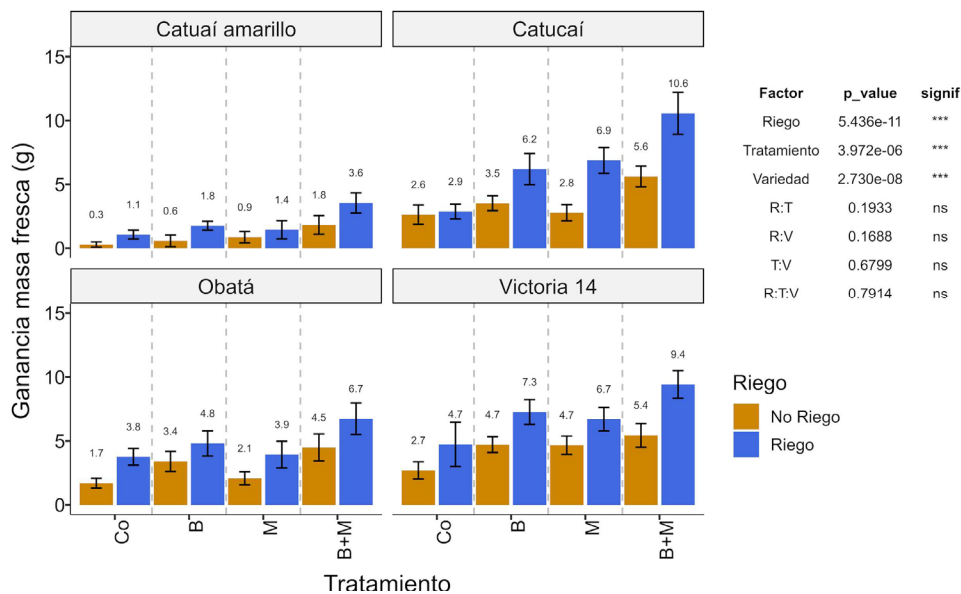
**Figura 5. Diferencias en el incremento de altura de las plantas de cuatro variedades de café con dos manejos de riego (R), al final del ensayo.** Tratamientos (T): Control (Co), Biocarbón (B), Microorganismos (M), Biocarbón + Microorganismos (B+M). Variedades de café (V): Catuaí amarillo (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14). Barras de error corresponden a la desviación estándar para cada incremento en altura (cm). Significancia ( $p < 0.05$ ) indicada por los asteriscos \*\*\* para cada uno de los factores.

**Figure 5. Differences in the height increase of the plants of four coffee varieties with two irrigation managements (R), at the end of the trial.** Treatments (T): Control (Co), Biochar (B), Microorganisms (M), Biochar + Microorganisms (B+M). Coffee varieties (V): Yellow Catuaí (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14). Error bars correspond to the standard deviation for each increase in height (cm). Significance ( $p < 0.05$ ) is indicated by the asterisks \*\*\* for each of the factors.

tomate con la incorporación de la interacción de biocarbón y microorganismos benéficos. Esto se debe a que el biocarbón mejora la vida útil y promueve la supervivencia de los inóculos, fomentando las propiedades de crecimiento de las plantas (Bolan *et al.*, 2023). La estructura porosa del biocarbón, al ser usualmente mayor que muchas bacterias y hongos, puede generar condiciones aptas para que los microorganismos puedan colonizar reduciendo la amenaza de depredadores y del estrés ambiental, como por ejemplo, el déficit de agua en el suelo (Huang *et al.*, 2023).

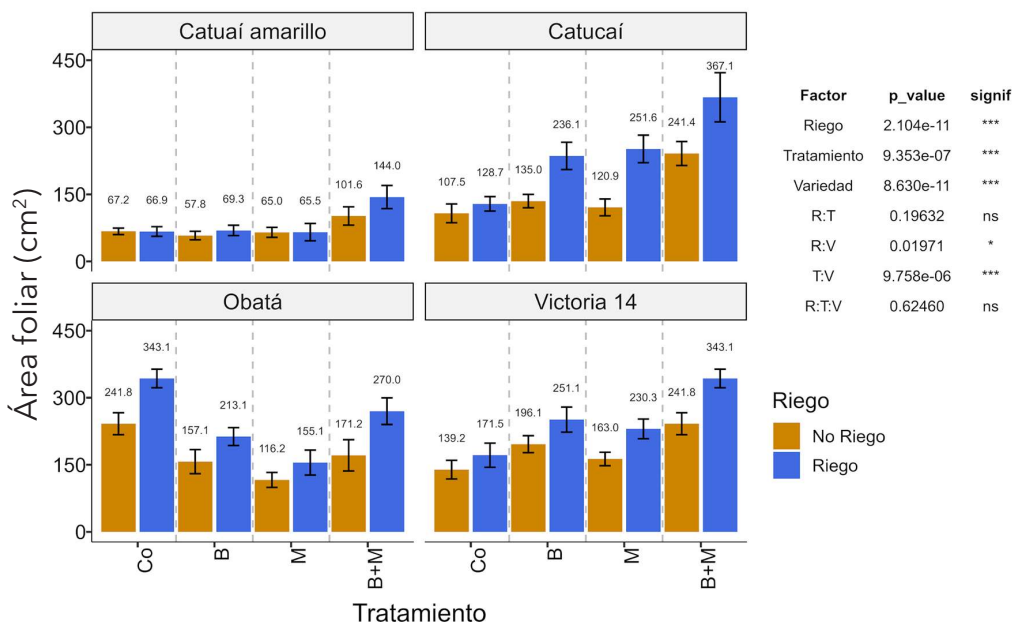
**Masa Fresca y Área Foliar.** Las Figuras 6 y 7 muestran la ganancia en masa fresca total y el área foliar, respectivamente, para cada una de las variedades de acuerdo con los tratamientos. Al igual que con la altura, la variedad de Catuaí amarillo, mostró las menores diferencias de masa con respecto a la condición inicial y de área foliar, al ser comparada con las otras variedades, esto principalmente por el genotipo de la variedad, que son plantas de tamaño pequeño y vigorosas, según el World Coffee Research (2023). Sin embargo, al igual que las otras variedades, mantuvieron una tendencia creciente de ganancia de masa fresca y de área foliar al aplicarse B+M bajo condiciones de riego (R). Aún bajo condiciones de estrés hídrico (N-R), se observó el efecto creciente de biomasa en los tratamientos B+M y B.

Al comparar la condición de riego (R vs N-R) para un mismo tratamiento las variedades Ct y V14 tuvieron una mayor ganancia de masa fresca en B+M, seguido por los tratamientos B y M. Por el contrario, en la variedad Ob la condición de riego impactó de forma similar, independientemente del tratamiento, donde se observó en todos los tratamientos, menos en el tratamiento B, un aumento de hasta 2.0 veces la masa fresca con respecto a la condición de no riego N-R. Al comparar la masa fresca ganada entre los tratamientos con respecto al control Co, para las mismas condiciones de riego R, se observó que en la variedad Ct la ganancia en masa fresca fue de hasta 4.0 veces mayor en B+M y 2 veces más en B y M. Por otro lado, para las variedades V14 y Ob la diferencia en ganancia de masa fresca con respecto a Co, fue entre 2.0 y 1.0 veces mayor, siendo B+M el que mostró las mayores diferencias. En la condición de riego N-R, las diferencias entre tratamientos con respecto a Co, se redujo a la mitad en la variedad Ct, manteniendo el tratamiento B+M las mayores diferencias, en las variedades V14 y Ob, las diferencias fueron muy similares a la condición de riego R. Interesantemente, en la variedad Ob, al igual que con la ganancia en altura, la masa fresca aumentó hasta un 50 y 58% en los tratamientos B+M y B, respectivamente, en la condición N-R con respecto a la condición de riego R.



**Figura 6. Ganancia de masa fresca total de las plantas de cuatro variedades de café con dos manejos de riego (R), al final del ensayo.** Tratamientos (T): Control (Co), Biocarbón (B), Microorganismos (M), Biocarbón + Microorganismos (B+M). Variedades de café (V): Catuaí amarillo (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14). Barras de error corresponden a la desviación estándar para cada ganancia de masa fresca (g). Significancia ( $p < 0.05$ ) indicada por los asteriscos \*\*\* para cada uno de los factores.

**Figure 6. Total fresh mass gain of the plants of four coffee varieties with two irrigation treatments (R), at the end of the trial.** Treatments (T): Control (Co), Biochar (B), Microorganisms (M), Biochar + Microorganisms (B+M). Coffee varieties (V): Yellow Catuaí (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14). Error bars correspond to the standard deviation for each fresh mass gain (g). Significance ( $p < 0.05$ ) is indicated by the asterisks \*\*\* for each of the factors.

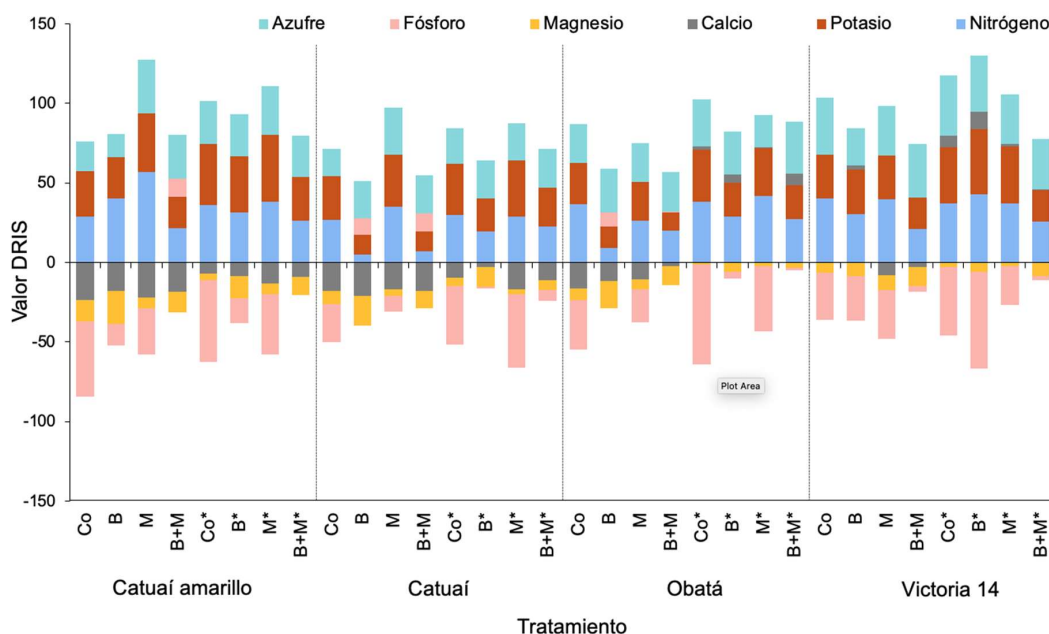


**Figura 7. Área foliar de las plantas de cuatro variedades de café con dos manejos de riego (R), al final del ensayo.** Tratamientos (T): Control (Co), Biocarbón (B), Microorganismos (M), Biocarbón + Microorganismos (B+M). Variedades de café (V): Catuaí amarillo (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14). Barras de error corresponden a la desviación estándar para el área foliar (cm<sup>2</sup>). Significancia ( $p < 0.05$ ) indicada por los asteriscos \*\*\* para cada uno de los factores y la relación tratamiento: variedad.

**Figure 7. Leaf area of the plants of four coffee varieties with two irrigation treatments (R), at the end of the trial.** Treatments (T): Control (Co), Biochar (B), Microorganisms (M), Biochar + Microorganisms (B+M). Coffee varieties (V): Yellow Catuaí (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14). Error bars correspond to the standard deviation for leaf area (cm<sup>2</sup>). Significance ( $p < 0.05$ ) is indicated by the asterisks \*\*\* for each of the factors and the ratio treatment: variety.

Al comparar el área foliar para un mismo tratamiento bajo las condiciones de riego R y N-R, en la variedad V14, el tratamiento B+M mostró las mayores diferencias entre ambas condiciones hídricas, mientras que en las variedades Ct y Ob los tratamientos M y Co tuvieron las mayores diferencias en área foliar, respectivamente. Por otro lado, al comparar el área foliar de los tratamientos con respecto a Co, ante las dos condiciones hídricas R y N-R, se observó que para la variedad V14, el aumento del área foliar no dependió del riego, pero sí de los tratamientos, siendo el aumento del área foliar, en el tratamiento B+M, de hasta 2.0 veces más que la observada en Co, y de 1.3 veces más para los tratamientos M y B. Para la variedad Ct, bajo las condiciones de riego R, el tratamiento B+M obtuvo 3.0 veces más área foliar que Co, mientras que en los tratamientos M y B fue de hasta 2.0 veces más. Contrariamente, en la variedad Ob, el área foliar del tratamiento Co fue en promedio 1.7 veces mayor que las obtenidas en los tratamientos B+M, B y M, independientemente del riego, esto sugiere que tanto el biocarbón como los microorganismos no contribuyeron al desarrollo del área foliar para esta variedad. Varios autores señalan el incremento general de la masa de las plantas debido a interacción del biocarbón con los microorganismos (De Medeiros *et al.*, 2020; De Medeiros *et al.*, 2024), producto de la mejora en las propiedades físicas, biológicas y químicas del suelo. En este estudio, los tratamientos B+M y B mejoraron la conductividad hidráulica saturada, la capacidad del aire en el suelo, la densidad aparente, la presencia de microorganismos, el pH, la presencia de fósforo y la relación C/N. El biocarbón altera la estructura del suelo y promueve la colonización de hongos y de actinomicetes, mejorando la formación de agregados en el suelo, e impactando positivamente en la capacidad de aireación del suelo. Asimismo, la mejora en la capacidad de intercambio catiónico del suelo, con la aplicación del biocarbón, puede aumentar la abundancia de bacterias fijadoras de nitrógeno, rizobacterias, y bacterias nitrificantes y desnitrificantes, lo que promueve el crecimiento de las plantas y mejora su capacidad para enfrentar el estrés ambiental (Huang *et al.*, 2023).

**Foliar nutrientes.** El índice DRIS para los macroelementos (Figura 8), muestra cómo los tratamientos en los que se aplicó B y B+M, se agrupan más con los valores más cercanos a cero o más equilibrados (barras más cortas), para ambos manejos de riego. Además, el equilibrio de los nutrientes, principalmente del P y S, inciden en el



**Figura 8. Valores DRIS para los macroelementos (N, K, Ca, Mg, P, S), ordenados tomando como prioridad el valor de P (Fósforo), por variedad y por manejo de riego.** Simbología de los tratamientos: Control (Co), Microorganismos (M), Biocarbón (B), Biocarbón + Microorganismos (B+M). Simbología de las variedades de café: Victoria 14 (V14), Obatá (Ob), Catucaí (Ct), Catucaí amarillo (Ca). Los tratamientos con asterisco \* fueron sometidos a estrés hídrico.

**Figure 8. DRIS values for macroelements (N, K, Ca, Mg, P, S), ordered taking as priority the value of P (Phosphorus), by variety and by irrigation management.** Treatment symbols: Control (Co), Microorganisms (M), Biochar (B), Biochar + Microorganisms (B+M). Symbology of coffee varieties: Victoria 14 (V14), Obatá (Ob), Catucaí (Ct), Yellow Catucaí (Ca). Treatments with an asterisk \* were subjected to water stress.

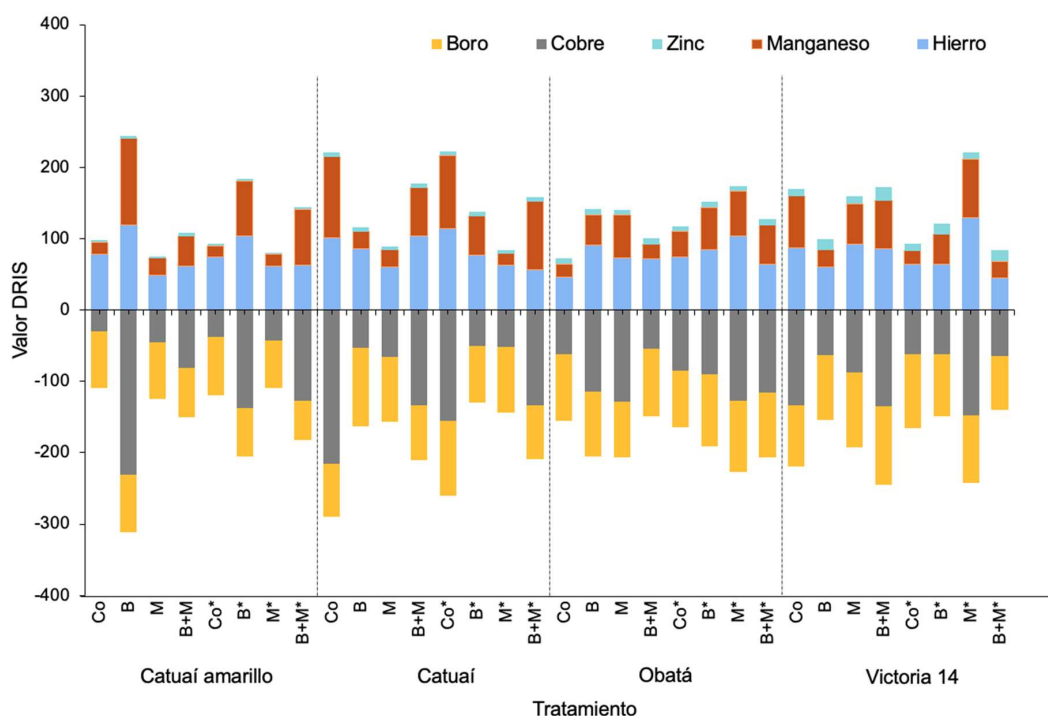
equilibrio de los demás macroelementos. Esto coincide parcialmente con lo publicado por Arizaleta *et al.* (2002), quienes relacionaron el índice DRIS de P, con mejores rendimientos en plantas de café, así como lo publicado por Camargo y Emilio (2015<sup>1</sup>), quien encontró mayores valores de P en plantas de cacao en vivero en un tratamiento donde se mezcló biocarbón con microorganismos, estos últimos autores atribuyen el resultado a la capacidad de solubilización de P por parte de los microorganismos.

La Figura 9 muestra los valores DRIS para los micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B), sin evidenciar con claridad una relación entre los tratamientos y los valores DRIS. Se observa que, para el caso de algunos elementos los valores DRIS se relacionan más con la variedad de café que con los tratamientos o con el tipo de riego, a excepción de Fe, que muestra valores más equilibrados donde se incorporaron microorganismos. García-López y Delgado (2017<sup>2</sup>) relacionó el fósforo orgánico que solubilizan algunos microorganismos benéficos por medio de sideróforos u hormonas y la exudación de compuestos quelantes producidos por estos microorganismos con la capacidad de solubilizar también el hierro presente en la rizosfera y el favorecimiento de la absorción de Fe por parte de las plantas, esto podría explicar los niveles más equilibrados para el caso de estos dos elementos. También se puede notar un aumento en los porcentajes de Cu en los tratamientos con biocarbón indistintamente del manejo del riego, coincidiendo con lo reportado por Alcañiz *et al.* (2014), en cuanto a un aumento en la concentración foliar de Cu luego de haber realizado aplicaciones de biocarbón en plantas de uva.

**Incidencia y severidad.** Las Figuras 10 y 11 muestran la incidencia y severidad, respectivamente, del hongo *Cercospora coffeicola* (mancha de hierro) sobre las plantas de café. En general, la incidencia de la enfermedad tuvo una tendencia al alza en los tratamientos que contaron con riego reducido (N-R), excepto para la variedad Victoria 14 donde los tratamientos Co y B+M, mostraron mayor incidencia de la enfermedad ante con condiciones

<sup>1</sup> Camargo, E., & Emilio, Y. (2015). *Efectos del biocarbón y los "Microorganismos Eficientes" sobre el desarrollo de plantas de cacao criollo (Theobroma cacao L) en fase vivero*. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Agronomo. Universidad Nacional Experimental del Táchira. San Cristóbal, Venezuela. Disponible en: <https://repositorio.unet.edu.ve:8443/jspui/bitstream/123456789/609/1/AGR201517057475PG.pdf>

<sup>2</sup> García-López, A. M., & Delgado-García, A. (2017). *Efecto de la fuente de fósforo y de la inoculación con diferentes microorganismos sobre la absorción de hierro y fósforo por las plantas*. Tesis de para obtener el grado de Doctor en Ciencias, Universidad de Sevilla, Sevilla, España. Disponible en: <https://hdl.handle.net/11441/75375>

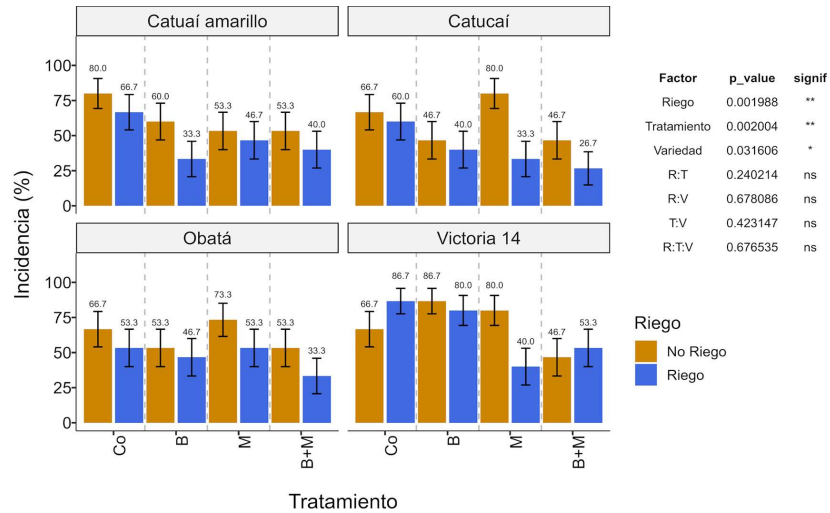


**Figura 9. Valores DRIS para los micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B) en los análisis foliares, con respecto al valor de Fe, por variedad y por manejo de riego.** Simbología de las variedades de café: Catuái amarillo (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14). Simbología de los tratamientos: Control (Co), Microorganismos (M), Biocarbón (B), Biocarbón + Microorganismos (B+M). Los tratamientos con asterisco \* fueron sometidos a estrés hídrico (N-R).

**Figure 9. RIS values for micronutrients (Fe, Mn, Zn, Cu, B) in foliar analyses, concerning the value of Fe, by variety and by irrigation management.** Symbology of coffee varieties: Yellow Catucaí (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14). Treatment symbols: Control (Co), Microorganisms (M), Biochar (B), Biochar + Microorganisms (B+M). Treatments with an asterisk \* were subjected to water stress (N-R).

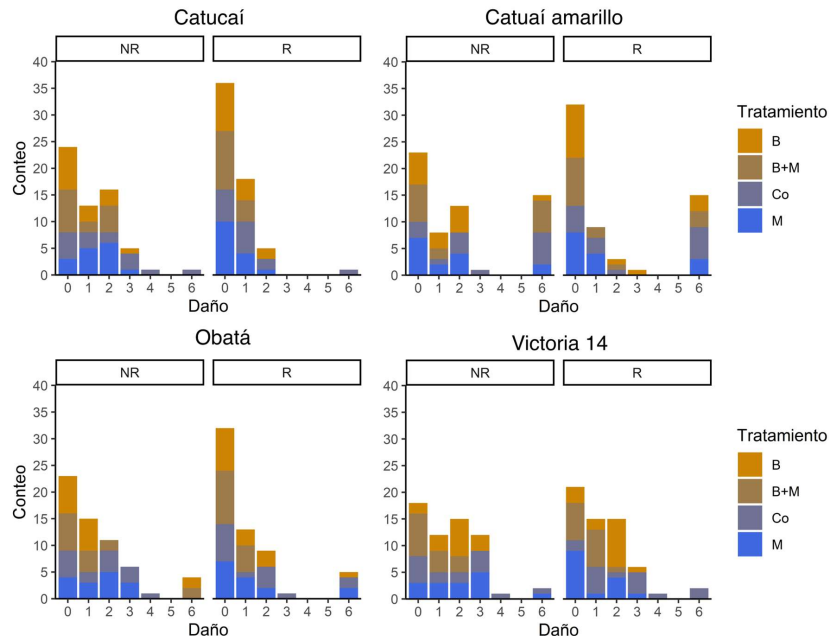
óptimas de riego, debido que la humedad pudo haber incidido en un mayor crecimiento de fitopatógenos y una disminución de la transpiración. Entre tratamientos, se observa una tendencia a la disminución de la incidencia en los tratamientos con biocarbón. Asimismo, se encontraron diferencias significativas entre variedades, algo que puede ser natural, debido a la misma capacidad genética del cultivar para resistir o no ciertas enfermedades (Geleta, Herrera, Monzon y Bryngelsson, 2012); en esta línea el World Coffee Research (2023) reporta una mayor resistencia hacia enfermedades en la variedad Obatá que en la variedad Catuái. Asimismo, Alworah *et al.* (2023) demostraron que la severidad del hongo *Furarium stilboides* estaba en función de la variedad del café, atribuido a una base genética estrecha y a un índice de diversidad menor al 10%. Los resultados concuerdan con reportes sobre las habilidades del biocarbón para controlar enfermedades causadas por patógenos, cambiando las características químicas del suelo, por ejemplo, el pH, lo cual es un mecanismo de supresión de enfermedades (De Medeiros *et al.*, 2023). El biocarbón no solo aumenta la densidad y actividad de microorganismos benéficos, sino que contribuye a cambiar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, induciendo la resistencia de las plantas a enfermedades y exhibiendo efectos fungitóxicos (Bonanomi, Ippolito y Scala, 2015).

En la Figura 11 se muestra la severidad en las plantas de acuerdo con los tratamientos y el riego aplicado. En los tratamientos con estrés hídrico, se evidencian más niveles de severidad que en los que contaron riego, siendo los tratamientos B y B+M los que contaron con menores niveles de severidad, principalmente en las variedades de Catucaí y Obatá. Contrariamente, las variedades Catuái amarillo y Victoria 14, tuvieron mayores niveles de severidad (de hasta niveles entre 2 y 3) en los tratamientos B y B+M. Al contar con riego, los niveles de severidad se reducen en todas las variedades, excepto para Victoria 14, que continúa manteniendo niveles de severidad de hasta 3, en los tratamientos B y B+M. Esto concuerda con Pérez-Salas, Tapia, Soto y Benjamin (2013), quien reportó niveles significativamente más bajos de severidad del agente patógeno *Fusarium oxysporum* en banano, con la aplicación de microorganismos y biocarbón. Los niveles de severidad parecen estar relacionados más a las variedades que a los tratamientos, sin embargo, es notable la tendencia a tener una menor severidad cuando se asocia al tratamiento B+M. González-Marquetti, Rodríguez, Delgado y Schmidt (2020) explicaron la disminución



**Figura 10. Incidencia de las enfermedades del cultivo de café con dos manejos de riego para todas las plantas y variedades.** Tratamientos: Control (Co), Biocarbón (B), Microorganismos (M), Biocarbón + Microorganismos (B+M). Variedades de café: Catuaí amarillo (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14). Barras de error corresponden a la desviación estándar para el porcentaje de incidencia de enfermedades. Significancia ( $p < 0.05$ ) indicada por el asterisco \* para el factor de variedad. Significancia ( $p < 0.01$ ) indicada por los asteriscos \*\* para los factores de riego y tratamiento.

**Figure 10. Incidence of diseases in coffee crops with two irrigation methods for all plants and varieties.** Treatments: Control (Co), Biochar (B), Microorganisms (M), Biochar + Microorganisms (B+M). Coffee varieties: Yellow Catuaí (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14). Error bars correspond to the standard deviation for the percentage of disease incidence. Significance ( $p < 0.05$ ) is indicated by the asterisk \* for the variety factor. Significance ( $p < 0.01$ ) is indicated by the asterisks \*\* for the irrigation and treatment factors.



**Figura 11. Severidad de las enfermedades del cultivo de café con dos manejos de riego, para todas las plantas y variedades.** Tratamientos: Control (Co), Biocarbón (B), Microorganismos (M), Biocarbón + Microorganismos (B+M). Variedades de café: Catuaí amarillo (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14), con riego (R) y no riego (NR).

**Figure 11. Severity of diseases in coffee crops with two irrigation methods, for all plants and varieties.** Treatments: Control (Co), Biochar (B), Microorganisms (M), Biochar + Microorganisms (B+M). Coffee varieties: Yellow Catuaí (Ca), Catucaí (Ct), Obatá (Ob), Victoria 14 (V14), irrigated (R) and non-irrigated (NR).



de la incidencia y la severidad de enfermedades asociada a la aplicación de microorganismos como *Trichoderma*, los cuales activan los mecanismos propios de defensa en las plantas, pero también lo relacionaron con la aplicación del biocarbón. Estos autores asociaron la capacidad del biocarbón de adsorber moléculas de diversos tamaños por su alta área superficial, provocando la absorción de sustancias químicas de los exudados de la raíz, modificando las interacciones químicas de la rizosfera y haciendo ese espacio, menos apto para el desarrollo del patógeno. Algunos estudios han evidenciado el efecto positivo del balance nutricional (Rengifo, Leguizamón y Riaño, 2007), y del uso de bacterias antagonistas como *Bacillus megaterium* y *Bacillus badius* (Sirinunta y Akarapisan, 2015) en la reducción de la incidencia y severidad de la mancha de hierro en café. Asimismo, la revisión realizada por Parasar y Agarwala (2025) destaca la influencia significativa del biocarbón sobre la proliferación, diversificación y composición estructural de la comunidad microbiana del suelo, lo que mejora la disponibilidad de nutrientes, y en consecuencia la salud del suelo. Estos efectos contribuyen a disminuir la incidencia de enfermedades en los almácigos de café.

## CONCLUSIONES

La combinación de biocarbón y microorganismos es una opción de manejo agronómico en almácigos de café para mejorar el crecimiento y resistencia de las plantas ante condiciones climáticas adversas, principalmente bajo estrés hídrico.

A pesar de que la reducción en el riego afectó significativamente a las plantas de las cuatro variedades de café, la resiliencia en el crecimiento y resistencia a enfermedades fue más evidente en los tratamientos B y B+M. El biocarbón mejoró la conductividad hidráulica en el sustrato, la capacidad del aire y el agua disponible para las plantas. Asimismo, disminuyó la acidez y la saturación de aluminio, incrementando la capacidad de intercambio catiónico y la conductividad eléctrica, mejoró de forma notable la relación C/N, aumentó los porcentajes de fósforo y redujo el hierro. La combinación biocarbón y microorganismos también mejoró significativamente el desarrollo foliar y la altura, aún en condiciones de estrés hídrico. Combinar biocarbón con microorganismos mejora el equilibrio de los macro y micronutrientes a nivel foliar, siendo más notable el mejoramiento de los niveles de P y Fe. Aunque la aplicación de biocarbón y microorganismos no disminuyó la incidencia del agente patógeno *Cercospora coffeicola*, sí disminuyó de manera significativa la severidad de este, aún en condiciones de estrés hídrico.

Este estudio contribuyó a generar conocimiento sobre el potencial efecto que puede tener el biocarbón en combinación con microorganismos para propiciar condiciones adecuadas para el crecimiento del café en almácigo y la capacidad de resistencia del cultivo tanto a enfermedades como a las limitantes hídricas cada vez más frecuentes en nuestra región.

## DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

## CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

## DISPONIBILIDAD DE DATOS

No aplicable.

## CONFLICTO DE INTERESES

No aplicable.

## FINANCIACIÓN

No aplicable.

## CONTRIBUCIÓN DE AUTORES

Investigación: E.A.P.; conceptualización y metodología: E.A.P. y K.V.M.; software: E.A.P. y J.P. validación: E.A.P. y K.V.M. Análisis formal: E.A.P. y K.V.M.; recursos: E.A.P. y K.V.M. Curación de datos: E.A.P. y J.P. Preparación de borrador inicial, escritura, revisión y edición: E.A.P. y K.V.M.; visualización: E.A.P., K.V.M. y J.P.; supervisión: K.V.M.; adquisición de fondos: E.A.P. y K.V.M.; escritura, revisión y análisis formal: E.A.P., K.V.M. y F.M.M.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la cátedra de Forestal y a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del Instituto Tecnológico de Costa Rica por (CF 1431030) el apoyo brindado para la realización de esta investigación. También al departamento de I+D de Coopetarrázú por al apoyo y facilitar el espacio para la realización del ensayo.

## LITERATURA CITADA

- Abbramoff, M. D., Magalhães, P. J., & Ram, S. J. (2004). Image processing with ImageJ. *Biophotonics International*, 11(7), 36-42.
- Alcañiz, J., Ubalde, J., Domene, X., Carabassa, V., Cañizares, R., Raya, I., & Mattana, S. (2014). *Algunos efectos de un biocarbón (biochar) de pino sobre la producción y calidad de la uva*. Villafranca del Penedes, Spain: Centre de Recerca Ecològica i Aplicacions Forestals.
- Aloo, B. N., Mbega, E. R., Makumba, B. A., & Tumuhairwe, J. B. (2022). Effects of carrier materials and storage temperatures on the viability and stability of three biofertilizer inoculants obtained from potato (*Solanum tuberosum* L.) rhizosphere. *Agriculture*, 12(2), 140. <https://doi.org/10.3390/agriculture12020140>
- Almazroui, M., Islam, M. N., Saeed, F., Saeed, S., Ismail, M., Ehsan, M. A., ... & Barlow, M. (2021). Projected changes in temperature and precipitation over the United States, Central America, and the Caribbean in CMIP6 GCMs. *Earth Systems and Environment*, 5(1), 1-24.
- Alworah, G. O., Ogendo, J. O., Mafurah, J. J., Gichuru, E. K., Miano, D. W., & Okumu, O. O. (2023). A Method for Selection of Coffee Varieties Resistant to *Fusarium stilboides*. *Agronomy*, 13(9), 2321. <https://doi.org/10.3390/agronomy13092321>
- Arizaleta, M., Rodríguez, O., & Rodríguez, V. (2002). Relación de los índices DRIS, índices de balance de nutrientes, contenido foliar de nutrientes y el rendimiento del café en Venezuela. *Bioagro*, 14(3), 153-159.
- Berninger, T., González-López, Ó., Bejarano, A., Preininger, C., & Sessitsch, A. (2018). Maintenance and assessment of cell viability in formulation of non-sporulating bacterial inoculants. *Microbial Biotechnology*, 11(2), 277-301. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12880>
- Bolan, S., Hou, D., Wang, L., Hale, L., Egamberdieva, D., Tammeg, P., ... & Bolan, N. (2023). The potential of biochar as a microbial carrier for agricultural and environmental applications. *Science of the Total Environment*, 886, 163968. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163968>
- Bonanomi, G., Ippolito, F., & Scala, F. (2015). A "black" future for plant pathology? Biochar as a new soil amendment for controlling plant diseases. *Journal of Plant Pathology*, 97(2), 223-234.
- Cargua-Chávez, J. E., Luna-Tamayo, A. K., González-Sanango, H., Cedeño-García, G. A., & Cedeño-Sacón, Á. F. (2022). Growth and quality of Arabica coffee plants with the application of biochar and biofertilizers in the nursery. *Chilean Journal of Agricultural and Animal Science*, 38, 3-14. <https://doi.org/10.29393/CHJAAS38-1CCJA50001>
- Chukwudi, U. P., Babalola, O. O., Glick, B. R., Santoyo, G., & Rigobelo, E. C. (2025). Field application of beneficial microbes to ameliorate drought stress in maize. *Plant and Soil*, 2025, 1-20. <https://doi.org/10.1007/s11104-025-07446-y>
- Cisneros, C., Franco, J. M., Realpe, M., & Fuenmayor, J. C. (2017). Influencia de microorganismos en la disponibilidad de fósforo en plántulas de café (*Coffea arabica*). *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15(1), 19-26. [http://dx.doi.org/10.18684/BSAA\(15\)19-26](http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(15)19-26)
- Custódio, A. A. D. P., Pozza, E. A., Guimarães, S. D. S. C., Koshikumo, É. S. M., Hoyos, J. M. A., & Souza, P. E. D. (2011). Comparison and validation of diagrammatic scales for brown eye spots in coffee tree leaves. *Ciência e Agrotecnologia*, 35, 1067-1076. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600005>
- Da Silva, J. S. A., de Medeiros, E. V., Da Costa, D. P., de Souza, C. A. F., De Oliveira, J. B., da França, R. F., ... & Hammecker, C. (2022). Biochar and *Trichoderma aureoviride* URM 5158 as alternatives for the management of cassava root rot. *Applied Soil Ecology*, 172, 104353. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104353>
- Daryaei, A., Jones, E. E., Ghazalibiglar, H., Glare, T. R., & Falloon, R. E. (2016). Effects of temperature, light and incubation period on production, germination and bioactivity of *Trichoderma atroviride*. *Journal of Applied Microbiology*, 120(4), 999-1009. <https://doi.org/10.1111/jam.13076>
- De Man, J. D., Rogosa, D., & Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology*, 23(1), 130-135.
- De Medeiros, E. V., dos Santos Moraes, M. D. C. H., da Costa, D. P., Duda, G. P., de Oliveira, J. B., Araujo da Silva, J. S., ... & Hammecker, C. (2020). Effect of biochar and inoculation with *Trichoderma aureoviride* on melon growth and sandy Entisol quality. *Australian Journal of Crop Science*, 14, 971-977. <https://doi.org/10.21475/ajcs.20.14.06.p2302>
- De Medeiros, E. V., da Costa, D. P., Silva, E. L. D., de França, A. F., de Sousa Lima, J. R., Hammecker, C., ... & Araujo, A. S. F. (2024). Biochar and *Trichoderma* as an Eco-friendly and Low-Cost Alternative to Improve Soil Chemical and Biological Properties. *Waste Biomass Valor*, 15, 1439-1450. <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02240-2>
- De Medeiros, E. V., De Souza, C. A. F., Da Costa, D. P., De Melo, R. E., De Lima, E. J., da Silva Araújo, I., ... & Hammecker, C. (2023). A meta-analysis of biochar application to manage plant diseases caused by bacterial pathogens. *Bioscience Journal*, 39, e39095. <https://doi.org/10.14393/BJ-v39n0a2023-67325>
- Devi, R., Alsaffar, M. F., AL-Taey, D. K., Kumar, S., Negi, R., Sharma, B., ... & Ahluwalia, A. S. (2024). Synergistic effect of minerals solubilizing and siderophores producing bacteria as different microbial consortium for growth and nutrient uptake of oats (*Avena sativa* L.). *Vegetos*, 37(5), 1863-1875. <https://doi.org/10.1007/s42535-024-00922-3>
- Díaz-Romeu, R., & Hunter, A. (1978). *Metodologías de muestreo de suelos, análisis químico de suelos y tejido vegetal y de investigaciones en invernadero*. Turrialba, Costa Rica: CATIE.
- Donoso, E., Lobos, G. A., & Rojas, N. (2008). Efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* en vivero. *Bosque (Valdivia)*, 29(1), 52-57.

- EBC (European Biochar Certificate). (2025). *Guidelines for a Sustainable Production of Biochar*. Carbon Standards International (CSI) Frick, Switzerland: EBC. Consultado el 14 de Agosto, 2025, desde <http://carbon-standards.com/ebc>
- El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Soliman, S. M., Salem, H. M., Ahmed, A. I., Mahmood, M., ... & AbuQamar, S. F. (2022). Plant growth-promoting microorganisms as biocontrol agents of plant diseases: Mechanisms, challenges and future perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 13, 923880.
- Elad, Y., Chet, I., & Henis, Y. (1981). A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. *Phytoparasitica*, 9(1), 59-67. <https://doi.org/10.1007/BF03158330>
- Escalante-Rebolledo, A., Pérez-López, G., Hidalgo-Moreno, C., López-Collado, J., Campo-Alves, J., Valtierra-Pacheco, E., & Etchevers-Barra, J. D. (2016). Biocarbón (biochar) I: Naturaleza, historia, fabricación y uso en el suelo. *Terra Latinoamericana*, 34(3), 367-382.
- Escudero-Leyva, E., Alfaro-Vargas, P., Muñoz-Arrieta, R., Charpentier-Alfaro, C., Granados-Montero, M. D. M., Valverde-Madrigo, K. S., ... & Mora-Villalobos, J. A. (2022). Tolerance and biological removal of fungicides by *Trichoderma* species isolated from the endosphere of wild Rubiaceae plants. *Frontiers in Agronomy*, 3, 772170. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.772170>
- Eze, J. N., Salihu, B. Z., Isong, A., Aliyu, U., Ibrahim, P. A., Gbanguba, A. U., ... & Aremu, P. A. (2022). Climate change impact on agriculture and water resources - A Review. *BADEGGI Journal of Agricultural Research and Environment*, 4(2), 72-85.
- Feijoo, M. A. L. (2016). Microorganismos eficientes y sus beneficios para los agricultores. *Revista Científica Agroecosistemas*, 4(2), 31-40.
- Furtado, B. N., Borges, L., Amorim, V. A., & Matos, F. S. (2020). A importância do ácido salicílico na mitigação do déficit hídrico em plantas de cafeeiro. *Agri-Environmental Sciences*, 6, 12-12.
- Gao, S., & DeLuca, T. H. (2020). Biochar alters nitrogen and phosphorus dynamics in a western rangeland ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 148, 107868.
- Gamarra-Lezcano, C. C., Díaz-Lezcano, M. I., Vera-de Ortíz, M., Galeano, M. D. P., & Cabrera-Cardús, A. J. N. (2018). Relación carbono-nitrógeno en suelos de sistemas silvopastoriles del Chaco paraguayo. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 9(46), 4-26.
- Geleta, M., Herrera, I., Monzon, A., & Bryngelsson, T. (2012). Genetic diversity of arabica coffee (*Coffea arabica* L.) in Nicaragua as estimated by simple sequence repeat markers. *The Scientific World Journal*, 2012(1), 939820. <https://doi.org/10.1100/2012/939820>
- González-Marquetti, I., Rodríguez, M. G., Delgado-Oramas, B. P., & Schmidt, H. P. (2020). Biochar y su contribución a la nutrición, crecimiento y defensa de las plantas. *Revista de Protección Vegetal*, 35(2), 1-17.
- Gurwick, N. P., Moore, L. A., Kelly, C., & Elias, P. (2013). A systematic review of biochar research, with a focus on its stability in situ and its promise as a climate mitigation strategy. *PLoS One*, 8(9), e75932. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075932>
- Herrera, E. L., Feijoo, C. Y., Alfaro, R., Solís, J. L., Gómez, M. M., Keiski, R. L., & Cruz, G. J. (2018). Producción de biocarbón a partir de biomasa residual y su uso en la germinación y crecimiento en vivero de *Capparis scabrifolia* (Sapote). *Scientia Agropecuaria*, 9(4), 569-577. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.04.13>
- Hossain Sani, M. N. H., Hasan, M., Uddain, J., & Subramaniam, S. (2020). Impact of application of *Trichoderma* and biochar on growth, productivity and nutritional quality of tomato under reduced NPK fertilization. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(1), 107-115. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2020.06.003>
- Huang, K., Zhang, J., Tang, G., Bao, D., Wang, T., & Kong, D. (2023). Impacts and mechanisms of biochar on soil microorganisms. *Plant, Soil and Environment*, 69(2), 45-54. <https://doi.org/10.17221/348/2022-PSE>
- ICAFFE (Instituto del Café de Costa Rica). (2020). *Guía técnica para el cultivo del café*. Instituto del Café de Costa Rica. Costa Rica: ICAFFE-CICAFFE. ISBN: 978-9977-55-054-1
- Imhoff, J. F. (2001). True marine and halophilic anoxygenic phototrophic bacteria. *Archives of Microbiology*, 176(4), 243-254. <https://doi.org/10.1007/s002030100326>
- IMN (Instituto Meteorológico Nacional de Costa Rica). (2015). El Niño: Fase cálida del Enos. Consultado el 13 de febrero, 2024, desde [https://www.imn.ac.cr/documents/10179/37774/5-EL+NI%C3%91O\\_FASE\\_CALIDA\\_ENSO.pdf/0b8e55b1-c560-4fd7-aae2-710c95527702](https://www.imn.ac.cr/documents/10179/37774/5-EL+NI%C3%91O_FASE_CALIDA_ENSO.pdf/0b8e55b1-c560-4fd7-aae2-710c95527702)
- Jiang, Z., Huang, S., & Meng, Z. (2025). Long-term effects of biochar on the hydraulic properties of soil: A meta-analysis based on 1-10 years field experiments. *Geoderma*, 458, 117318. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2025.117318>
- Jiménez, C., de Albarracín, N. S., Altuna, G., & Alcano, M. (2011). Efecto de *Trichoderma harzianum* (Rifai) sobre el crecimiento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ*, 28, 1-10.
- Klute, A. (1986). *Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods*. Fort Collins, Colorado, USA: American Society of Agronomy, Inc. ISBN: 978-0-89118-088-3
- Ko, H. I., Yang, H. I., Kim, S. R., Jeong, C. R., Eun, J. B., & Kim, T. W. (2024). Development a modified MRS medium for enhanced growth of psychrotrophic lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Lwt*, 210, 116815. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116815>
- Kuryntseva, P., Galieva, G., Pavlova, Y., Galitskaya, P., & Selivanovskaya, S. (2023). Biochar made from chicken manure-a fertilizer that can ensure the carbon neutrality of agricultural soils in conditions of elevated temperatures. En *Proceedings III International Conference on Improving Energy Efficiency, Environmental Safety and Sustainable Development in Agriculture*. (p. 01013) Tayikistán, Tajikistan: EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202346301013>
- Lehmann, J., Pereira da Silva Jr, J., Steiner, C., Nehls, T., Zech, W., & Glaser, B. (2003). Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. *Plant and Soil*, 249(2), 343-357.
- Leng, L., Xiong, Q., Yang, L., Li, H., Zhou, Y., Zhang, W., ... & Huang, H. (2021). An overview on engineering the surface area and porosity of biochar. *Science of the total Environment*, 763, 144204.
- López-Courrau, K., Rivera-Méndez, W., Brenes-Madriz, J., & Zúñiga-Vega, C. (2018). Establecimiento de un protocolo para el crecimiento y multiplicación de *Setophoma terrestris* y *Fusarium* spp. provenientes de un cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.). *Revista Tecnología en Marcha*, 31(4), 37-48. <https://dx.doi.org/10.18845/tm.v31i4.3958>
- Lozano, H. A. M., & Afanasjeva, N. (2023). Efecto de la aplicación de biochar en la actividad microbiana en suelos: Revisión. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 21(2), 193-209.
- Murillo, O., & Badilla, Y. (2022). Árboles maderables como sombra de café. *InvestigaTEC*, 15(45), 11-14.
- MykoBank (2023). *Cercospora coffeicola*. Consultado el 13 de febrero, 2024, desde <http://www.MykoBank.org>
- Neto, J. L. L. M., Araújo, W. F., Chagas, E. A., da Silva Siqueira, R. H., Oliveira, G. A., & Rodriguez, C. A. (2017). *Revista Agroambiente On-line*, 11(4), 347-360.
- Nicholls, C. I., & Altieri, M. A. (2019). Bases agroecológicas para la adaptación de la agricultura al cambio climático. *Cuadernos de Investigación UNED*, 11(1), 55-61.
- Parasar, B. J., & Agarwala, N. (2025). Unravelling the role of biochar-microbe-soil tripartite interaction in regulating soil carbon and nitrogen budget: a panacea to soil sustainability. *Biochar*, 7(1), 37. <https://doi.org/10.1007/s42773-024-00411-5>

- Pérez-Salas, R. A., Tapia-Fernández, A. C., Soto, G., & Benjamin, T. (2013). Efecto del Bio-carbón sobre *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* y el desarrollo de plantas de banano (*Musa AAA*). *Intersedes*, 14(27), 66-100.
- Qian, K., Kumar, A., Zhang, H., Bellmer, D., & Huhnke, R. (2015). Recent advances in utilization of biochar. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42, 1055-1064.
- R Core Team (2024). *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Rasband, W. S. (2018). *ImageJ (Version 1.38e) User's Guide*. Bethesda, Maryland, USA: National Institutes of Health.
- Rengifo, H. G., Leguizamón, J. E., & Riaño, N. M. (2002). Algunos aspectos biológicos de *Cercospora coffeicola*. *Cenicafé*, 53(3), 169-177.
- Rengifo, H. G., Leguizamón, J. E., & Riaño, N. M. (2007). Incidencia y severidad de la mancha de hierro en plántulas de *Coffea arabica* en diferentes condiciones de nutrición. *Cenicafé*, 57(3), 232-242.
- Rodríguez, O., & Rodríguez, V. (2000). Documento: Desarrollo, determinación e interpretación de normas DRIS para el diagnóstico nutricional en plantas. Una revisión. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 17, 449-470.
- Sánchez-Reinoso, A. D., Colmenares-Jaramillo, A., Lombardini, L., & Restrepo-Díaz, H. (2023). Physiological response of 'Castillo el Tambo' coffee plants to biochar and chemical fertilization applications. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 83(3), 307-319.
- Schad, P. (2023). World Reference Base for Soil Resources-Its fourth edition. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 186(5), 620-627.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Singh, B., Camps-Arbestain, M., Lehmann, J. (2017). *Biochar: A guide to analytical methods*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. <https://doi.org/10.1071/9781486305100>
- Sirinunta, A., & Akarapisan, A. (2015). Screening of antagonistic bacteria for controlling *Cercospora coffeicola* in Arabica coffee. *Journal of Agricultural Technology*, 11(5), 1209-1218.
- Sparks, D. L. (1996). *Methods of soil analysis. Part 3: Chemical methods* (SSSA Book Series No. 5, Vol. 14). Madison, WI, USA: Soil Science Society of America-American Society of Agronomy.
- Timofeeva, A. M., Galyamova, M. R., & Sedykh, S. E. (2023). Plant growth-promoting soil bacteria: nitrogen fixation, phosphate solubilization, siderophore production, and other biological activities. *Plants*, 12(24), 4074.
- Viguera, B., Alpizar, F., Harvey, C. A., Martínez-Rodríguez, M. R., & Saborío-Rodríguez, M. (2019). Percepciones de cambio climático y respuestas adaptativas de caficultores costarricenses de pequeña escala. *Agronomía Mesoamericana*, 30(2), 333-351.
- Villagra-Mendoza, K., & Horn, R. (2018). Effect of biochar addition on hydraulic functions of two textural soils. *Geoderma*, 326, 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.03.021>
- Villagra-Mendoza, K., Masís-Meléndez, F., Quesada-Kimsey, J., García-González, C. A., & Horn, R. (2021). Physicochemical changes in loam soils amended with bamboo biochar and their influence in tomato production yield. *Agronomy*, 11(10), 2052.
- Wambacq, E., Alloul, A., Grunert, O., Carrette, J., Vermeir, P., Spanoghe, J., ... & Haesaert, G. (2022). Aerobes and phototrophs as microbial organic fertilizers: Exploring mineralization, fertilization and plant protection features. *Plos One*, 17(2), e0262497.
- World Coffee Research (2023). *Catálogo de variedades de café*. Consultado el 23 de febrero, 2023, desde <https://varieties.worldcoffeeresearch.org/es>
- Yadav, A., & Yadav, K. (2024). Challenges and opportunities in biofertilizer commercialization. *SVOA Microbiol*, 5(1), 1-14.
- Zonayet, M., Paul, A. K., Faisal-E-Alam, M., Syfullah, K., Castanho, R. A., & Meyer, D. (2023). Impact of biochar as a soil conditioner to improve the soil properties of saline soil and productivity of tomato. *Sustainability*, 15(6), 4832. <https://doi.org/10.3390/su15064832>