



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**“IDENTIFICACIÓN DEL MICROBIOMA DEL CAFÉ DE ESPECIALIDAD DEL  
ESTADO DE MÉXICO”**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**PRESENTA:**

**I.A.I. ISaura PALOMARES SALVADOR**

**COMITÉ DE TUTORES:**

**DRA. MARÍA DOLORES MARIEZCURRENA BERASAIN**

**DRA. ITZEL ROJAS PUEBLA**

**DR. JOSÉ FRANCISCO RAMÍREZ DÁVILA**

**Junio 2026**

**CAMPUS UNIVERSITARIO “EL CERRILLO”, EL CERRILLO PIEDRAS  
BLANCAS, TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO**

# ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL .....	i
ÍNDICE DE FIGURAS .....	iv
ÍNDICE DE TABLAS .....	vi
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT .....	ix
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
2.1 Antecedentes .....	4
2.2 El café en México .....	5
2.3 El café en el Estado de México .....	6
2.4 Generalidades del cultivo de café .....	6
2.5 Café de especialidad .....	11
2.6 Fermentación del café .....	12
2.7 Microorganismos en el café .....	13
2.8 Secuenciación de amplicones y herramientas bioinformáticas para el estudio de comunidades microbianas .....	18
III. HIPÓTESIS .....	25
IV. JUSTIFICACIÓN .....	26

V.	OBJETIVOS .....	28
VI.	METODOLOGÍA.....	29
	6.1 Descripción de la zona de estudio .....	29
	6.2 Muestreo .....	29
	6.3 Extracción de ADN .....	30
	6.4 Electroforesis .....	32
	6.5 Amplificación .....	32
	6.6 Secuenciación.....	33
	6.7 Procesamiento bioinformático .....	33
	6.8 Análisis estadístico.....	34
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
	7.1. Calidad de las secuencias .....	36
	7.2. Diversidad bacteriana y conectividad entre matrices .....	40
	7.3. Abundancia relativa bacteriana .....	42
	7.4. Diversidad alfa ( $\alpha$ ) y beta ( $\beta$ ) bacteriana .....	47
	7.5. Diversidad fúngica y conectividad entre matrices .....	52
	7.6. Abundancia relativa fúngica .....	54
	7.7. Diversidad alfa ( $\alpha$ ) y beta ( $\beta$ ) fúngica .....	58
	7.8. Relación funcional entre microbioma ambiental, fermentación y calidad sensorial.....	64

VIII.	CONCLUSIONES.....	66
IX.	SUGERENCIAS .....	68
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	70

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de Venn de los géneros bacterianos compartidos y exclusivos entre las matrices evaluadas.....	41
Figura 2. Composición taxonómica a nivel de género en suelo. Los valores dentro de las barras representan la abundancia relativa de cada género según la secuenciación 16S. ....	43
Figura 3. Composición taxonómica a nivel de género en raíz. Los valores dentro de las barras representan la abundancia relativa de cada género según la secuenciación 16S .....	45
Figura 4. Distribución del índice de Shannon en comunidades bacterianas de suelo y raíz. ....	48
Figura 5. Análisis de coordenadas principales (PCoA) basado en la distancia de Bray-Curtis para evaluar la estructura de la comunidad bacteriana entre muestras. Cada punto representa una muestra (azul = suelo, rojo = raíz). Los ejes indican el porcentaje de variación explicada. Las diferencias entre grupos se evaluaron mediante PERMANOVA ( $p = 0.005$ , $R^2 = 0.7286$ ). ....	51
Figura 6. Diagrama de Venn de los géneros fúngicos compartidos y exclusivos entre las matrices evaluadas.....	53
Figura 7. Composición taxonómica a nivel de género en suelo. Los valores dentro de las barras representan la abundancia relativa de cada género según la secuenciación ITS. ....	55

Figura 8. Composición taxonómica a nivel de género en raíz. Los valores dentro de las barras representan la abundancia relativa de cada género según la secuenciación ITS..... 56

Figura 9. Distribución del índice de Shannon en comunidades fúngicas de suelo y raíz. .... 60

Figura 10. Análisis de coordenadas principales (PCoA) basado en la distancia de Bray-Curtis para evaluar la estructura de la comunidad fúngica entre muestras. Cada punto representa una muestra (azul = suelo, rojo = raíz). Los ejes indican el porcentaje de variación explicada. Las diferencias entre grupos se evaluaron mediante PERMANOVA ( $p = 0.005$ ,  $R^2 = 0.7286$ ). ..... 62

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen del procesamiento bioinformático y control de calidad de secuencias 16S de muestras de suelo, raíz y agua mediante QIIME2. ....	37
Tabla 2. Resumen del procesamiento bioinformático y control de calidad de secuencias ITS de muestras de suelo, raíz y agua mediante QIIME2. ....	39
Tabla 3. Diversidad $\alpha$ bacteriana .....	47
Tabla 4. Prueba de Kruskal–Wallis para comunidades bacterianas .....	49
Tabla 5. Análisis PERMANOVA de las comunidades bacterianas .....	50
Tabla 6. Diversidad $\alpha$ fúngica .....	59
Tabla 7. Prueba de Kruskal–Wallis para comunidades fúngicas .....	61
Tabla 8. Análisis PERMANOVA de las comunidades fúngicas .....	61

## RESUMEN

El microbioma ambiental del café permite comprender las interacciones ecológicas entre suelo, raíz, fruto y agua, así como su participación potencial en procesos como el reciclaje de nutrientes, la interacción planta-microorganismo y la disponibilidad de microorganismos durante etapas postcosecha. El objetivo de este estudio fue caracterizar la composición, diversidad y estructura ecológica de comunidades bacterianas y fúngicas asociadas con café de especialidad (*Coffea arabica* L.) producido en el Estado de México, a fin de identificar reservorios microbianos y discutir su potencial relación con procesos de fermentación y calidad del café con base en literatura especializada. Se recolectaron muestras de suelo, raíz, fruto y agua en una finca cafetalera de Temascaltepec, Estado de México. La caracterización microbiana se realizó mediante secuenciación de los marcadores 16S rRNA e ITS y análisis bioinformáticos en QIIME2 utilizando las bases de datos SILVA y UNITE. Los resultados mostraron una estructuración microbiana diferenciada según la matriz. En bacterias, se identificó un núcleo compartido entre suelo, raíz y agua, con diferencias significativas en diversidad beta. En hongos, el suelo presentó mayor riqueza y diversidad, mientras que la raíz mostró un efecto de selección más restrictivo. En conclusión, el sistema cafetalero alberga un microbioma ambiental diverso y ecológicamente diferenciado, donde el suelo actúa como principal reservorio microbiano y la raíz como nicho de selección. Estos resultados constituyen una línea base para futuras investigaciones que integren análisis sensoriales, fisicoquímicos, metabolómicos o ensayos de fermentación

dirigida para evaluar con mayor precisión la contribución de la microbiota local a la calidad del café.

Palabras clave: microbioma del café; fermentación del café; *Coffea arabica*; microbiota ambiental; 16S rRNA; ITS; diversidad microbiana; reservorios microbianos.

## ABSTRACT

The environmental microbiome associated with coffee cultivation provides valuable insights into the ecological interactions among soil, roots, fruits, and water, as well as its potential involvement in nutrient cycling, plant-microbe interactions, and the availability of microorganisms during postharvest stages. This study aimed to characterize the composition, diversity, and ecological structure of bacterial and fungal communities associated with specialty coffee (*Coffea arabica* L.) cultivated in the State of Mexico, to identify microbial reservoirs and discuss their potential relationship with coffee fermentation and quality based on specialized literature. Soil, root, fruit, and water samples were collected from a coffee plantation in Temascaltepec, State of Mexico. Microbial communities were characterized through high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene and the internal transcribed spacer (ITS) region, followed by bioinformatic analysis in QIIME2 using the SILVA and UNITE reference databases. The results revealed clear microbial differentiation among sample matrices. Bacterial communities exhibited a shared core microbiome across soil, roots, and water, while significant differences were observed in beta diversity. Fungal communities showed the highest richness and diversity in soil, whereas roots exerted a stronger selective effect on community composition. Overall, the coffee agroecosystem harbors a diverse and ecologically differentiated environmental microbiome, with soil serving as the main microbial reservoir and roots acting as a selective ecological niche. These findings provide a baseline for future studies integrating sensory, physicochemical, metabolomic, or controlled

fermentation analyses to evaluate more precisely the contribution of local microbiota to coffee quality.

Keywords: coffee microbiome; coffee fermentation; *Coffea arabica*; environmental microbiota; 16S rRNA gene; ITS region; microbial diversity; microbial reservoirs.

# I. INTRODUCCIÓN

El microbioma ambiental asociado con las plantas de café constituye un componente biológico relevante para comprender los procesos ecológicos que pueden influir en el desarrollo del cultivo, el procesamiento postcosecha y la calidad potencial del producto final. El suelo, las raíces, los frutos, el agua y las superficies vegetales albergan comunidades bacterianas y fúngicas diversas que pueden actuar como reservorios microbianos dentro del sistema cafetalero. En este sentido, la caracterización de dichas comunidades permite describir la ecología microbiana local de las plantaciones de café e identificar microorganismos con posible participación en procesos relacionados con la fermentación, la transformación de sustratos y la generación de metabolitos asociados con la calidad sensorial.

Desde esta perspectiva, la fermentación del café puede entenderse como una etapa postcosecha en la que el microbioma ambiental podría desempeñar un papel importante. La actividad metabólica de bacterias, levaduras y hongos filamentosos puede contribuir a la degradación del mucílago y a la formación de precursores sensoriales. Durante este proceso, los azúcares, pectinas, compuestos fenólicos, proteínas y lípidos presentes en el fruto pueden ser transformados en etanol, ácidos orgánicos y compuestos volátiles, incluidos alcoholes, ésteres, aldehídos y cetonas, los cuales han sido asociados con el desarrollo del aroma y sabor del café después del tostado (Pothakos *et al.*, 2020; Puerta *et al.*, 2015; Rocha *et al.*, 2023).

La dinámica microbiana involucrada en la fermentación no está determinada únicamente por los microorganismos presentes en el fruto o en el mucílago, sino que puede estar influenciada por un sistema ecológico más amplio, en el cual el suelo, las raíces, el agua y las superficies asociadas a la planta contribuyen al conjunto microbiano disponible durante el procesamiento postcosecha (Holguín-Sterling *et al.*, 2023). Esta interacción entre diferentes matrices permite considerar que la fermentación del café se encuentra vinculada con un contexto ecológico multi-matriz, donde la composición microbiana local, las condiciones ambientales y las prácticas de manejo pueden influir en las rutas metabólicas asociadas con el desarrollo de perfiles sensoriales.

Dentro de este contexto ecológico, distintos grupos microbianos pueden participar de manera diferencial en la transformación de los sustratos presentes durante la fermentación. En las etapas iniciales suelen favorecerse levaduras capaces de metabolizar azúcares simples y producir etanol, ésteres y alcoholes superiores, metabolitos asociados con notas frutales, dulces y florales. Conforme avanza el proceso fermentativo, las bacterias ácido-lácticas pueden contribuir a la acidificación del medio, al equilibrio sensorial y a la sucesión microbiana, mientras que las bacterias acéticas pueden oxidar el etanol hacia ácido acético. Esta actividad puede incrementar la complejidad sensorial cuando el proceso es controlado, aunque también puede generar defectos bajo condiciones de acidificación excesiva o fermentaciones prolongadas. Por ello, comprender la composición de las comunidades microbianas asociadas con las matrices del café

es importante para explicar la posible formación de perfiles deseables o desviaciones fermentativas (Pothakos *et al.*, 2020; Todhanakasem *et al.*, 2024).

La estructura de estas comunidades microbianas está influenciada por factores ambientales, geográficos y productivos, lo que ha llevado a proponer la existencia de un efecto de “terroir microbiano” en el café (Pereira *et al.*, 2022; Veloso *et al.*, 2023). Desde esta perspectiva, el microbioma local no solo acompaña al cultivo, sino que podría contribuir a la identidad sensorial del producto final mediante la presencia de microorganismos con funciones metabólicas específicas. Sin embargo, la mayoría de los estudios se han centrado en el microbioma del fruto durante la fermentación, mientras que el microbioma ambiental del sistema cafetalero permanece menos explorado, particularmente en regiones cafetaleras emergentes como el Estado de México.

Por lo tanto, esta investigación tuvo como objetivo caracterizar la estructura, composición y diversidad del microbioma ambiental asociado con café de especialidad (*Coffea arabica* L.) producido en el Estado de México. Para ello, se analizaron a nivel taxonómico las comunidades bacterianas y fúngicas presentes en matrices del sistema cafetalero, con la finalidad de identificar posibles reservorios microbianos y patrones de diferenciación ecológica. La relación con la fermentación y la calidad del café se abordó de manera indirecta e inferencial, mediante la comparación de los géneros identificados con antecedentes científicos, sin establecer una relación causal directa con atributos sensoriales, metabolitos volátiles o procesos fermentativos controlados.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Antecedentes

El café es uno de los cultivos de mayor importancia económica, social y cultural a nivel mundial. Su origen se ha relacionado históricamente con África, particularmente con regiones de Etiopía, donde se reconoce la presencia ancestral de especies del género *Coffea*. Diversos relatos históricos señalan que el consumo del café se desarrolló inicialmente a partir del aprovechamiento de los frutos del cafeto, los cuales posteriormente fueron transformados en bebida mediante procesos de secado, tostado y molienda. Aunque parte de su historia se ha transmitido mediante relatos tradicionales, como la leyenda del pastor Kaldi, el café adquirió relevancia global por sus propiedades estimulantes, su valor comercial y su papel en distintas culturas alimentarias (Artusi, 2021; Didier, 2018; Unigarro *et al.*, 2025).

La palabra “café” proviene del árabe *qahwa* y llegó a distintas lenguas a través del turco *kahweh*. Con el tiempo, el cultivo y consumo del café se expandieron desde África y Medio Oriente hacia Europa, Asia y América, hasta convertirse en una de las bebidas más consumidas a nivel mundial. Actualmente, además de su relevancia comercial, el café es objeto de estudio por su compleja composición química, sus atributos sensoriales y la influencia que ejercen el ambiente, la genética vegetal, el manejo agronómico y los procesos postcosecha sobre su calidad final (Didier, 2018; Unigarro *et al.*, 2025).

## **2.2 El café en México**

Existen registros de la llegada del café a México desde el siglo XVIII. Su introducción se ha asociado con rutas provenientes del Caribe, particularmente Jamaica, Haití, Santo Domingo y Cuba, desde donde plantas de café arábica llegaron a las costas de Veracruz y Tabasco, para posteriormente establecerse en regiones como Xalapa, Coatepec, Córdoba y Chilpancingo (Didier, 2018).

México cuenta con condiciones agroecológicas favorables para la producción de café, debido a la diversidad de altitudes, climas y suelos presentes en distintas regiones del país. Estas condiciones permiten el cultivo de variedades con potencial para obtener cafés de alta calidad. De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, México se ha ubicado entre los principales productores de café a nivel mundial, con una producción distribuida en diversas entidades federativas (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2022).

El café es considerado un cultivo estratégico en México, tanto por su importancia económica como por su impacto social. Su producción involucra a más de 500 mil productores distribuidos en 15 entidades federativas y 480 municipios. En 2024, la superficie sembrada de café fue de aproximadamente 703,943 hectáreas, de las cuales se obtuvo una producción de café cereza de 1,056,306 toneladas. Los principales estados productores fueron Chiapas, Veracruz y Puebla, que en conjunto aportaron más del 80% de la producción nacional (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2024).

### **2.3 El café en el Estado de México**

En el Estado de México, el café se cultiva principalmente en la región sur, en municipios como Almoloya de Alquisiras, Amatepec, Malinalco, Ocuilan, San Simón de Guerrero, Sultepec, Tejupilco, Temascaltepec y Tlatlaya. En estas zonas, el cultivo suele desarrollarse bajo sistemas rústicos o de montaña, en condiciones ambientales que favorecen la producción de café con características diferenciadas (Gaona *et al.*, 2024; Leguizamo *et al.*, 2023).

Aunque el Estado de México es considerado un microproductor de café en comparación con entidades como Chiapas, Veracruz o Puebla, algunas regiones presentan condiciones favorables de altitud, clima y suelo para la producción de café de especialidad. Leguizamo *et al.* (2023) reportan que la entidad cuenta con aproximadamente 539 hectáreas plantadas, concentradas principalmente en los municipios de Amatepec, Sultepec y Temascaltepec. Estas características hacen relevante el estudio del café mexiquense, particularmente desde enfoques que permitan comprender los factores ambientales y microbiológicos asociados con su diferenciación productiva y sensorial.

### **2.4 Generalidades del cultivo de café**

El café pertenece al género *Coffea*, el cual comprende numerosas especies de importancia ecológica y económica. Entre ellas, *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner son las especies cultivadas comercialmente con mayor relevancia. Los granos de café corresponden a las semillas contenidas dentro

del fruto, conocido comúnmente como cereza. Una vez cosechadas, procesadas, secadas, tostadas y molidas, estas semillas son utilizadas principalmente para la preparación de una bebida de amplio consumo mundial (Herrera & Cortina, 2013; Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2022).

El cultivo de café requiere condiciones agroclimáticas específicas. De manera general, se desarrolla favorablemente en zonas con altitudes entre 600 y 1,200 m s. n. m., precipitaciones anuales de 1,500 a 2,500 mm y temperaturas entre 13 y 26 °C, aunque estos rangos pueden variar según la especie, variedad, sistema productivo y región geográfica (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria [CEDRSSA], 2019).

#### **2.4.1 Clasificación taxonómica**

El género *Coffea* pertenece a la familia Rubiaceae y agrupa especies de distribución principalmente tropical. Las plantas de este género pueden presentar formas arbustivas o arbóreas, con flores hermafroditas, generalmente blancas, y frutos tipo drupa que contienen usualmente dos semillas. Las especies de mayor importancia agrícola incluyen *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, *Coffea liberica*, *Coffea eugenioides* y *Coffea anthonyi*. No obstante, las dos especies de mayor producción comercial son *C. arabica* y *C. canephora* (Duran, 2010; Unigarro *et al.*, 2025).

#### **2.4.2 Descripción morfológica**

La morfología del cafeto es relevante para comprender la interacción entre la planta y su ambiente, incluyendo los compartimentos donde se establecen comunidades

microbianas. Entre estos compartimentos destacan la raíz, el fruto y las superficies vegetales, debido a su papel como nichos ecológicos para bacterias, hongos y levaduras.

La raíz cumple funciones esenciales de absorción de agua y nutrientes, almacenamiento de reservas y anclaje de la planta. El café desarrolla una raíz principal o pivotante, de la cual derivan raíces axiales, laterales y raicillas absorbentes. Estas últimas son particularmente relevantes por su interacción con la rizósfera, zona donde se establecen comunidades microbianas influenciadas por exudados radiculares, materia orgánica, humedad y características fisicoquímicas del suelo (Flórez *et al.*, 2013).

El tallo del café presenta nudos y entrenudos, a partir de los cuales se desarrollan hojas y ramas laterales. Las ramas primarias y secundarias, conocidas también como bandolas, son importantes porque en ellas ocurre principalmente la fructificación. Las hojas, por su parte, realizan procesos fisiológicos esenciales como fotosíntesis, respiración y transpiración, y también pueden albergar microorganismos epífitos en sus superficies (Arcila *et al.*, 2007; Duran, 2010; Flórez *et al.*, 2013).

Las flores del café se desarrollan en los nudos de las ramas y dan origen a los frutos. El fruto del café es una drupa cuyo proceso de maduración puede durar entre siete y ocho meses, dependiendo de la variedad y las condiciones ambientales. Está compuesto por distintas capas: epicarpio, mesocarpio, mucílago, endocarpio o

pergamino, película plateada, endospermo y embrión. El mucílago es de especial importancia en el procesamiento postcosecha, ya que constituye un sustrato rico en compuestos aprovechables por microorganismos durante la fermentación (Duran, 2010; Unigarro *et al.*, 2025).

### **2.4.3 *Coffea arabica***

*Coffea arabica* L. es la especie de café más cultivada a nivel mundial y se caracteriza por producir bebidas de alta calidad sensorial. Entre sus variedades más conocidas se encuentran Typica, Bourbon, Caturra, Mundo Novo, Tico, San Ramón y Blue Mountain. A diferencia de otras especies de café, *C. arabica* es tetraploide, lo cual la distingue genéticamente de especies diploides como *C. canephora* (Peñaranda *et al.*, 2020).

Esta especie tiene su origen en las tierras altas de Etiopía y se adapta favorablemente a condiciones de altitud media y alta. Sus granos presentan un contenido de cafeína menor que los de *C. canephora*, generalmente entre 0.9 y 1.5% en base seca. Aunque *C. arabica* es apreciada por sus atributos sensoriales, también es susceptible a diversos patógenos, entre ellos nematodos endoparásitos de raíz y la roya del café, causada por *Hemileia vastatrix* (Romero & Camilo, 2019; Ruta & Farcasanu, 2021).

### **2.4.4 *Coffea canephora***

*Coffea canephora*, comúnmente denominada Robusta, es otra especie de importancia comercial. Se caracteriza por presentar plantas vigorosas, de copa

amplia, hojas grandes y frutos relativamente pequeños. Esta especie es nativa de regiones ecuatoriales de África y se adapta a condiciones de menor altitud en comparación con *C. arabica* (Romero & Camilo, 2019; Ruta & Farcasanu, 2021).

Aunque *C. canephora* suele producir una bebida considerada de menor calidad sensorial que *C. arabica*, presenta ventajas agronómicas como mayor productividad, tolerancia a ciertas condiciones ambientales y mayor contenido de cafeína, que puede oscilar entre 2 y 4.5% en base seca. Por estas características, es ampliamente utilizada en mezclas comerciales y en la industria del café soluble (Romero & Camilo, 2019; Ruta & Farcasanu, 2021).

#### **2.4.5 Cosecha del café**

La cosecha del café consiste en la recolección de los frutos maduros, comúnmente denominados cerezas. La selección manual de frutos maduros es uno de los métodos más cuidadosos, ya que permite recolectar cerezas en estado óptimo de madurez, lo cual favorece la calidad del grano y reduce la presencia de defectos asociados con frutos verdes, sobremaduros o dañados (Artusi, 2021).

La maduración de las cerezas no ocurre de manera uniforme, incluso dentro de una misma planta o rama. Por ello, los productores suelen realizar varias pasadas de cosecha para seleccionar frutos con coloración rojo cereza o amarilla, según la variedad. El estado de madurez del fruto es relevante no solo para la calidad física y sensorial del café, sino también para la composición de sustratos disponibles

durante el procesamiento postcosecha y, por tanto, para la actividad microbiana durante la fermentación (Duran, 2010).

## **2.5 Café de especialidad**

El café de especialidad se caracteriza por privilegiar la calidad física, sensorial y la experiencia del consumidor. Su evaluación considera atributos como aroma, sabor, postgusto, acidez, cuerpo, equilibrio, dulzura, limpieza de taza y uniformidad. De acuerdo con la Specialty Coffee Association, un café puede considerarse de especialidad cuando obtiene una puntuación mínima de 80 puntos sobre 100 en una evaluación sensorial realizada por catadores calificados (Escamilla & Landeros, 2016; Ran *et al.*, 2025; Sarmiento *et al.*, 2025).

La calidad del café de especialidad no depende únicamente de la variedad vegetal o de las condiciones agronómicas, sino también de factores ambientales, prácticas de cosecha, manejo postcosecha, fermentación, secado, almacenamiento y tostado. En este contexto, la microbiota asociada al fruto y al ambiente del cafetal puede tener un papel relevante, ya que ciertos microorganismos participan en la transformación de compuestos presentes en el mucílago y en la generación de metabolitos asociados con características sensoriales diferenciadas (Pereira *et al.*, 2022; Pothakos *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2023).

## 2.6 Fermentación del café

La fermentación del café es un proceso bioquímico y microbiológico que ocurre durante el procesamiento postcosecha, especialmente en métodos lavados, semilavados, naturales o procesos controlados. Durante esta etapa, levaduras, bacterias y hongos pueden transformar compuestos orgánicos presentes en el mucílago, principalmente azúcares, pectinas y proteínas, en metabolitos como etanol, ácidos orgánicos, aminoácidos libres y compuestos volátiles. Estos productos pueden influir en el desarrollo del aroma, sabor, acidez y complejidad sensorial del café (Cenicafé, 2013; Mahatmanto *et al.*, 2023; Puerta *et al.*, 2015).

La fermentación puede durar entre 12 y 72 horas, dependiendo del método de procesamiento, temperatura, disponibilidad de oxígeno, carga microbiana inicial, variedad del café y condiciones ambientales. Una fermentación adecuada facilita el desprendimiento del mucílago y puede contribuir al desarrollo de perfiles sensoriales agradables. Sin embargo, fermentaciones excesivas o mal controladas pueden generar defectos asociados con acidificación excesiva, producción de compuestos indeseables o crecimiento de microorganismos no deseados (Ran *et al.*, 2025; Ruíz-Leza *et al.*, 2007).

Durante la fermentación se establecen interacciones complejas entre levaduras, bacterias ácido-lácticas, bacterias ácido-acéticas y hongos filamentosos. Las levaduras pueden producir enzimas pectinolíticas, etanol y compuestos aromáticos; las bacterias ácido-lácticas pueden contribuir a la acidificación y estabilidad del proceso; y las bacterias acéticas pueden oxidar etanol hacia ácido acético. Estas

interacciones influyen en la sucesión microbiana y en la formación de metabolitos relevantes para la calidad final del café (Pereira *et al.*, 2022; Pothakos *et al.*, 2020).

## **2.7 Microorganismos en el café**

### **2.7.1 Microorganismos en la fermentación y calidad sensorial del café**

La población microbiana presente durante la fermentación del café puede provenir de diversas fuentes, incluyendo la superficie del fruto, el mucílago, el suelo, el agua, las manos de los recolectores, los recipientes de transporte, los tanques de fermentación, insectos y superficies asociadas al procesamiento. Su desarrollo depende de factores intrínsecos, como la variedad, composición del fruto y humedad del grano, así como de factores extrínsecos, como temperatura, oxígeno, prácticas de manejo, higiene del proceso y microbiota ambiental (Mendoza, 2005; Zhang *et al.*, 2019).

Los microorganismos involucrados en la fermentación del café incluyen principalmente bacterias ácido-lácticas, bacterias ácido-acéticas, levaduras y hongos filamentosos. Estos grupos participan en la degradación de los sustratos del mucílago y en la producción de compuestos volátiles y no volátiles que pueden difundirse hacia el grano. Se ha reportado que durante el procesamiento del café pueden generarse cientos de compuestos asociados con el aroma y el sabor, muchos de los cuales dependen de la interacción entre la actividad microbiana y las condiciones del proceso (Nigam & Singh, 2014; Pothakos *et al.*, 2020).

Entre las bacterias reportadas con mayor frecuencia durante la fermentación destacan los géneros *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Weissella*, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Acinetobacter*. Asimismo, se ha descrito la predominancia de bacterias ácido-lácticas, particularmente *Leuconostoc pseudomesenteroides* y especies de *Lactobacillus*, durante etapas avanzadas de la fermentación (Peñuela-Martínez *et al.*, 2023; Pothakos *et al.*, 2020; Todhanakasem *et al.*, 2024).

En cuanto a las levaduras, los géneros más comúnmente identificados durante el proceso fermentativo incluyen *Saccharomyces*, *Pichia*, *Wickerhamomyces*, *Candida*, *Meyerozyma*, *Papiliotrema* y *Kurtzmaniella*, los cuales se asocian con actividades pectinolíticas y con la producción de metabolitos volátiles que pueden contribuir al perfil sensorial del café. Entre los hongos filamentosos se han reportado principalmente *Cladosporium* y *Alternaria* durante distintas etapas de la fermentación. En conjunto, estos microorganismos conforman una microbiota dinámica que puede influir en la calidad final del café fermentado, aunque su efecto depende de las condiciones específicas del proceso (Todhanakasem *et al.*, 2024).

### **2.7.2 Diversidad microbiana en suelos cafetaleros**

El suelo cafetalero constituye un reservorio microbiano complejo, donde bacterias, hongos, arqueas y actinomicetos participan en procesos ecológicos como reciclaje de nutrientes, descomposición de materia orgánica, solubilización de minerales, fijación de nitrógeno, interacción planta–microorganismo y supresión de patógenos. La composición de estas comunidades puede estar influenciada por el tipo de suelo,

altitud, humedad, temperatura, cobertura vegetal, prácticas agrícolas y manejo de fertilización (Rosabal *et al.*, 2021).

Entre los géneros bacterianos asociados con suelos y sistemas cafetaleros se han reportado *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Arthrobacter*, *Rhodobacter* y *Pantoea*. Algunas especies de *Bacillus*, como *B. subtilis*, *B. megaterium* y *B. cereus*, han sido relacionadas con la producción de enzimas, como poligalacturonasas y liasas de pectina, relevantes para la degradación de tejidos vegetales. Asimismo, ciertas especies de *Burkholderia* han sido descritas como bacterias asociadas con plantas y con potencial para participar en procesos de degradación de compuestos como la cafeína (Mahatmanto *et al.*, 2023; Rosabal *et al.*, 2021).

En cuanto a los hongos, en suelos cafetaleros se han identificado géneros como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Fusarium*, además de actinomicetos como *Streptomyces*. Algunos de estos microorganismos pueden desempeñar funciones benéficas, como degradación de materia orgánica o antagonismo frente a patógenos; sin embargo, otros pueden incluir especies fitopatógenas o productoras de metabolitos no deseables. Por ello, la caracterización taxonómica del suelo permite aproximarse a la diversidad microbiana disponible en el sistema cafetalero y a su posible papel como fuente de microorganismos para otros compartimentos de la planta (Rosabal *et al.*, 2021).

### **2.7.3 Microbiota asociada al agua de fuentes naturales**

El agua utilizada en los sistemas cafetaleros puede constituir una fuente adicional de microorganismos, especialmente cuando participa en el lavado, despulpado, fermentación o transporte del café. Las comunidades microbianas presentes en fuentes de agua pueden variar según el origen del recurso, las condiciones hidrológicas, el contenido de nutrientes, la temperatura, la exposición ambiental y la influencia de actividades humanas (Ramírez-Flores, 2009; Vargha *et al.*, 2023).

El agua subterránea suele presentar comunidades biológicas menos abundantes debido a su bajo contenido de materia orgánica y nutrientes. No obstante, las actividades humanas, el crecimiento urbano y el manejo agrícola pueden modificar la composición microbiana de los cuerpos de agua y acuíferos. En sistemas de abastecimiento de agua se han identificado comunidades dominadas por filos como *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, *Nitrospira*, *Acidobacteriota* y *Actinobacteriota*, así como microorganismos relacionados con ciclos biogeoquímicos del nitrógeno, hierro, azufre y metano (Ramírez-Flores, 2009; Vargha *et al.*, 2023).

También se han identificado bacterias pertenecientes a los filos *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* y *Bacteroidetes* en agua de grifo y agua mineral. La composición de estas comunidades puede estar influenciada por factores ambientales, condiciones de almacenamiento y tratamiento del agua. Por ello, las fuentes de agua empleadas en el procesamiento del café pueden ser consideradas matrices relevantes dentro del sistema microbiológico asociado al cultivo y postcosecha (Sala-Comorera *et al.*, 2020).

#### **2.7.4 Microorganismos en frutos de café y su impacto potencial en la calidad**

Las cerezas de café albergan una amplia diversidad de microorganismos en su superficie, tejidos y mucílago. Algunos de estos microorganismos pueden ser dominantes y comunes en distintos cultivares y regiones geográficas, mientras que otros se presentan de manera menos frecuente o dependen de condiciones ambientales específicas. Entre las bacterias reportadas en frutos de café destacan *Leuconostoc*, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Bacillus*, *Lactococcus*, *Enterobacter*, *Lactobacillus*, *Serratia* y *Acinetobacter*, incluyendo bacterias ácido-lácticas y ácido-acéticas potencialmente relacionadas con la degradación del mucílago y la generación de compuestos asociados con calidad (Mahatmanto *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2000).

Entre las levaduras predominantes se han identificado géneros como *Pichia*, *Candida*, *Saccharomyces* y *Debaryomyces*, mientras que entre los hongos filamentosos destacan *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Estos microorganismos se encuentran naturalmente asociados a la superficie y tejidos del fruto, y algunos de ellos han sido vinculados con actividades enzimáticas, transformación de azúcares, producción de ácidos orgánicos y formación de compuestos aromáticos. No obstante, su efecto sobre la calidad depende de la especie, abundancia, sucesión microbiana y condiciones de fermentación (Mahatmanto *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2000).

## **2.8 Secuenciación de amplicones y herramientas bioinformáticas para el estudio de comunidades microbianas**

El estudio de comunidades microbianas ha sido transformado por el desarrollo de técnicas de secuenciación de alto rendimiento, las cuales permiten identificar microorganismos cultivables y no cultivables presentes en muestras ambientales. Estas aproximaciones han facilitado el análisis de microbiomas complejos en suelos, plantas, agua, alimentos y sistemas fermentativos, al permitir la caracterización taxonómica de bacterias, arqueas, hongos y otros microorganismos mediante marcadores moleculares específicos (Cortés-López *et al.*, 2020; Martínez-Muñoz *et al.*, 2022).

Dentro de estas metodologías se distingue la secuenciación de amplicones, también denominada metagenómica dirigida o metabarcoding, y la metagenómica shotgun. La secuenciación de amplicones se basa en la amplificación de regiones específicas del ADN, como el gen 16S rRNA para bacterias y arqueas, o la región ITS para hongos. Esta aproximación permite describir la composición taxonómica y diversidad de comunidades microbianas, aunque presenta limitaciones para inferir funciones metabólicas directas. Por su parte, la metagenómica shotgun secuencia de manera aleatoria todo el ADN presente en una muestra, lo cual permite identificar genes funcionales, reconstruir genomas y analizar vías metabólicas con mayor resolución funcional (Martínez-Muñoz *et al.*, 2022).

La extracción de ADN ambiental constituye una etapa crítica para el estudio de microbiomas, ya que la calidad, pureza e integridad del material genético influyen

directamente en la amplificación, secuenciación y análisis posterior. En matrices ambientales complejas, como suelo, raíz, fruto o agua, la extracción debe permitir recuperar ADN microbiano representativo y reducir la presencia de inhibidores. Existen diferentes estrategias de lisis celular, incluyendo métodos químicos, enzimáticos y mecánicos, cada uno con ventajas y limitaciones respecto a rendimiento, pureza y diversidad microbiana recuperada (Cortés-López *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021).

### **2.8.1 Técnicas de secuenciación de nueva generación**

La secuenciación de nueva generación, conocida como Next Generation Sequencing (NGS), comprende un conjunto de tecnologías diseñadas para secuenciar grandes cantidades de fragmentos de ADN de forma masiva y paralela. Estas tecnologías permiten obtener millones de lecturas en menor tiempo y con menor costo por base en comparación con métodos tradicionales como la secuenciación Sanger (Rubio *et al.*, 2020; Uhlen & Quake, 2023).

De manera general, los flujos de trabajo de NGS incluyen la fragmentación o amplificación del ADN, la incorporación de adaptadores e índices, la preparación de bibliotecas, la secuenciación y el análisis bioinformático de las lecturas obtenidas. En estudios de microbiomas, estas tecnologías han permitido caracterizar comunidades microbianas con mayor profundidad, detectar taxones de baja abundancia y comparar patrones de diversidad entre muestras o condiciones experimentales (Rubio *et al.*, 2020; Wensel *et al.*, 2022).

## **2.8.2 Técnicas de secuenciación aplicadas a microbiomas**

### **Secuenciación del gen 16S rRNA**

La secuenciación del gen 16S rRNA es una de las herramientas más utilizadas para el estudio de comunidades bacterianas. Este gen es altamente conservado entre bacterias, pero contiene regiones hipervariables que permiten diferenciar grupos taxonómicos. En los estudios de microbioma, se amplifican una o varias regiones del gen 16S mediante PCR, y posteriormente los productos son secuenciados para identificar la composición bacteriana de las muestras (Jovel *et al.*, 2016; Wensel *et al.*, 2022).

Después de la secuenciación, las lecturas obtenidas son sometidas a procesos de control de calidad, eliminación de adaptadores, filtrado de secuencias de baja calidad, remoción de quimeras y agrupamiento o inferencia de variantes de secuencia de amplicón. Tradicionalmente, las secuencias se agrupaban en unidades taxonómicas operativas (OTUs), mientras que actualmente es frecuente el uso de variantes de secuencia de amplicón (ASVs), que ofrecen mayor resolución al diferenciar secuencias exactas. La asignación taxonómica se realiza mediante comparación con bases de datos de referencia como SILVA, RDP o Greengenes (Jovel *et al.*, 2016; Wensel *et al.*, 2022).

### **Secuenciación de la región ITS**

La región ITS, o Internal Transcribed Spacer, es ampliamente utilizada para la caracterización de comunidades fúngicas. Esta región presenta variabilidad suficiente para diferenciar numerosos grupos de hongos y ha sido considerada un

marcador estándar para estudios de diversidad fúngica. Al igual que en el análisis 16S, los productos amplificados son secuenciados y posteriormente procesados mediante herramientas bioinformáticas para identificar taxones presentes en las muestras (Jovel *et al.*, 2016; Wensel *et al.*, 2022).

El análisis ITS permite aproximarse a la composición del microbioma en matrices ambientales y alimentarias, incluyendo suelos, raíces, frutos y sistemas fermentativos. Sin embargo, al igual que otras aproximaciones basadas en amplicones, su capacidad de inferir funciones metabólicas es limitada y debe complementarse con análisis funcionales, cultivo, metabolómica o metagenómica shotgun cuando se busca establecer relaciones causales entre microorganismos y procesos bioquímicos.

### **Secuenciación metagenómica shotgun**

La secuenciación metagenómica shotgun analiza todo el ADN presente en una muestra. Después de la extracción, el ADN se fragmenta de manera aleatoria y se preparan bibliotecas para secuenciación. Las lecturas resultantes se limpian, ensamblan o alinean contra bases de datos de referencia, lo que permite identificar taxones, genes funcionales y potencial metabólico de las comunidades microbianas (Jovel *et al.*, 2016; Wensel *et al.*, 2022).

Aunque la metagenómica shotgun proporciona mayor resolución funcional que la secuenciación de amplicones, también requiere mayor profundidad de secuenciación, costos más elevados y análisis bioinformáticos más complejos. Por

ello, en estudios exploratorios de microbiomas ambientales, la secuenciación de amplicones 16S rRNA e ITS continúa siendo una herramienta ampliamente utilizada para caracterizar la diversidad y composición taxonómica de comunidades bacterianas y fúngicas.

### **2.8.3 Principales herramientas bioinformáticas**

Los datos obtenidos mediante secuenciación masiva requieren herramientas bioinformáticas para su procesamiento, análisis e interpretación. Estas herramientas permiten realizar control de calidad, eliminación de quimeras, inferencia de ASVs u OTUs, asignación taxonómica, cálculo de diversidad alfa y beta, análisis estadísticos y generación de visualizaciones (Cortés-López *et al.*, 2020).

#### **QIIME 2**

QIIME 2 es una plataforma bioinformática de código abierto diseñada para el análisis de comunidades microbianas a partir de datos de secuenciación. Permite procesar secuencias crudas, realizar control de calidad, inferir variantes de secuencia de amplicón, asignar taxonomía, calcular métricas de diversidad y generar visualizaciones interactivas. Además, integra distintos plugins y métodos bioinformáticos que facilitan el análisis reproducible de microbiomas (Bolyen *et al.*, 2019; Cortés-López *et al.*, 2020; Navas-Molina *et al.*, 2013).

En estudios basados en amplicones, QIIME 2 es ampliamente utilizado por su capacidad para integrar flujos de trabajo completos desde la importación de datos

hasta el análisis estadístico y la visualización de resultados. Su uso permite comparar comunidades microbianas entre diferentes matrices, tratamientos o condiciones ambientales, por lo que resulta adecuado para estudios exploratorios de microbiomas asociados con sistemas agrícolas.

## **Kraken2**

Kraken2 es una herramienta bioinformática utilizada para la clasificación taxonómica rápida de secuencias metagenómicas. Emplea un enfoque basado en *k-mers*, en el cual pequeños fragmentos de secuencia son comparados con bases de datos de referencia para asignar etiquetas taxonómicas a las lecturas de ADN. Esta herramienta se utiliza principalmente en análisis metagenómicos shotgun, debido a su eficiencia computacional y velocidad de clasificación (Wood *et al.*, 2019).

Aunque Kraken2 no necesariamente se utiliza en todos los estudios basados en amplicones, su descripción resulta relevante como herramienta comparativa dentro del campo de la metagenómica y el análisis de comunidades microbianas complejas.

## **MetaPhlAn**

MetaPhlAn, o Metagenomic Phylogenetic Analysis, es una herramienta bioinformática utilizada para el perfilado taxonómico de comunidades microbianas a partir de datos de metagenómica shotgun. A diferencia de otros métodos que clasifican grandes cantidades de lecturas contra bases de datos completas,

MetaPhlAn utiliza genes marcadores específicos de clado para identificar y cuantificar microorganismos con alta precisión taxonómica (Truong *et al.*, 2015).

Versiónes recientes, como MetaPhlAn 4, incorporan información proveniente de genomas de referencia y genomas ensamblados metagenómicamente, lo que permite detectar especies previamente no caracterizadas y mejorar la resolución taxonómica en microbiomas complejos. No obstante, al igual que Kraken2, su aplicación se orienta principalmente a datos shotgun y no a estudios de amplicones 16S o ITS (Blanco-Míguez *et al.*, 2023; Truong *et al.*, 2015).

### **III. HIPÓTESIS**

Las comunidades bacterianas y fúngicas asociadas al sistema cafetalero del Estado de México difieren en composición y diversidad entre matrices ambientales como suelo, raíz, fruto y agua. Asimismo, algunos de los géneros identificados han sido reportados en la literatura como potencialmente relacionados con procesos de fermentación, transformación de sustratos y generación de metabolitos vinculados con la calidad del café.

## IV. JUSTIFICACIÓN

La calidad del café de especialidad está determinada por múltiples factores agronómicos, ambientales, postcosecha y sensoriales. Entre ellos, la fermentación constituye una etapa relevante, ya que durante este proceso diversos microorganismos pueden participar en la transformación de azúcares, pectinas y otros compuestos presentes en el fruto, generando metabolitos que han sido asociados con el desarrollo de perfiles aromáticos y sensoriales (Pereira *et al.*, 2022; Pothakos *et al.*, 2020; Rocha *et al.*, 2023).

Sin embargo, la microbiota que participa o puede influir en estos procesos no proviene únicamente del fruto, sino que forma parte de un sistema ecológico más amplio integrado por el suelo, la raíz, el agua y otras superficies asociadas al cafetal. Estas matrices pueden actuar como reservorios microbianos y contribuir a la composición inicial de las comunidades presentes durante el procesamiento postcosecha. Por ello, el estudio del microbioma ambiental permite generar información sobre la conectividad ecológica entre matrices y sobre la posible disponibilidad de microorganismos con potencial participación en procesos fermentativos (Veloso *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2019).

En el Estado de México, la producción de café de especialidad ha adquirido relevancia en regiones como Temascaltepec; no obstante, existe información limitada sobre la composición y diversidad del microbioma asociado con sus sistemas cafetaleros. Esta falta de información limita la comprensión de los factores

microbiológicos que podrían contribuir a la diferenciación del café producido en la región. Por ello, resulta importante caracterizar las comunidades bacterianas y fúngicas presentes en matrices ambientales del cultivo, con el fin de generar una línea base que permita comprender su estructura ecológica y su posible relación con procesos relevantes para la fermentación y diferenciación del café (Gaona *et al.*, 2024; Leguizamo *et al.*, 2023).

La presente investigación aporta información inicial sobre el microbioma ambiental del café de especialidad del Estado de México. Si bien no busca establecer una relación causal directa entre microorganismos y atributos sensoriales, sí permite identificar comunidades y géneros microbianos que, de acuerdo con la literatura, podrían tener potencial funcional en procesos de transformación de sustratos, producción de enzimas y generación de metabolitos asociados con la calidad del café. En consecuencia, este trabajo constituye una base para futuras investigaciones que integren análisis sensoriales, fisicoquímicos, metabolómicos o ensayos de fermentación controlada.

## V. OBJETIVOS

### Objetivo general

Caracterizar la composición, diversidad y estructura ecológica de las comunidades bacterianas y fúngicas asociadas al café de especialidad (*Coffea arabica* L.) producido en el Estado de México, mediante secuenciación molecular, e identificar su potencial relación ecológica con procesos de fermentación y calidad del café con base en antecedentes científicos.

### Objetivos específicos

1. Caracterizar la composición taxonómica de las comunidades bacterianas y fúngicas asociadas a matrices ambientales del sistema cafetalero, mediante secuenciación de los marcadores 16S rRNA e ITS.
2. Evaluar y comparar la diversidad alfa y beta de las comunidades microbianas presentes en las matrices analizadas, a fin de identificar patrones de diferenciación ecológica entre compartimentos del sistema cafetalero.
3. Identificar géneros bacterianos y fúngicos compartidos y exclusivos entre matrices, con el propósito de reconocer posibles reservorios microbianos y rutas potenciales de conectividad ecológica dentro del cafetal.
4. Discutir, con base en literatura especializada, el potencial funcional de los microorganismos identificados y su posible participación en procesos asociados con fermentación, transformación de sustratos y calidad del café.

## **VI. METODOLOGÍA**

### **6.1 Descripción de la zona de estudio**

La investigación se llevó a cabo en el sur del Estado de México, en la localidad de San Andrés de los Gama, perteneciente al municipio de Temascaltepec de González, ubicada aproximadamente en las coordenadas 19.04° N y 100.05° O. El municipio tiene una extensión territorial de 568.3 km<sup>2</sup>, lo que representa aproximadamente 2.5% del territorio estatal. Presenta un intervalo altitudinal de 1,200 a 3,600 m s. n. m. y temperaturas que oscilan entre 6 y 24 °C (Ayuntamiento de Temascaltepec, 2022).

El área de estudio correspondió a una finca cafetalera con una superficie aproximada de 2,000 m<sup>2</sup>, dedicada al cultivo de café de la variedad Caturra Roja. La selección del sitio se realizó considerando su ubicación dentro de una región productora de café en el Estado de México y su potencial para aportar información sobre el microbioma ambiental asociado con sistemas cafetaleros de montaña.

### **6.2 Muestreo**

Se recolectaron muestras de fruto, raíz y suelo en cinco puntos distribuidos dentro de la parcela, siguiendo criterios de muestreo previamente descritos para estudios de microbioma en sistemas cafetaleros (Veloso *et al.*, 2020). Las muestras fueron obtenidas procurando representar distintos compartimentos del sistema cafetalero y mantener condiciones estériles durante su manipulación.

Las muestras de fruto correspondieron a cerezas de café de la variedad Caturra Roja. Las muestras de raíz fueron recolectadas a partir de plantas de café seleccionadas dentro de la parcela, priorizando raíces finas asociadas con la zona rizosférica. Las muestras de suelo fueron tomadas en puntos cercanos a las plantas seleccionadas, con la finalidad de representar el ambiente edáfico asociado al cultivo. Adicionalmente, se recolectaron 2 L de agua en recipientes estériles, con el objetivo de evaluar su posible contribución al microbioma del sistema cafetalero.

Todas las muestras fueron recolectadas en condiciones estériles y almacenadas en bolsas o recipientes previamente esterilizados para evitar contaminación cruzada. Posteriormente, fueron transportadas en condiciones de refrigeración entre 2 y 8 °C, conforme a los principios generales de manejo microbiológico establecidos en la NOM-109-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1995), y almacenadas en ultracongelación hasta su procesamiento en laboratorio.

### **6.3 Extracción de ADN**

La extracción de ADN se realizó en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Ambiental de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Lerma, utilizando el kit DNeasy PowerSoil Pro (QIAGEN), conforme a las instrucciones del fabricante, con adecuaciones según el tipo de matriz analizada.

Previo a la extracción, las muestras de suelo fueron homogenizadas. Las muestras de fruto y raíz fueron sometidas a desinfección superficial con etanol al 70% e

hipoclorito de sodio al 1% (p/v), seguida de lavados con agua destilada estéril, con la finalidad de reducir la carga microbiana superficial y favorecer la recuperación de microorganismos asociados a los tejidos analizados. Posteriormente, las muestras se llevaron a ultracongelación a -80 °C durante 24 h y se maceraron, aprovechando la formación de cristales de hielo para facilitar la disrupción celular.

Las muestras de agua fueron filtradas a través de membranas Whatman de 0.2 µm para concentrar la biomasa microbiana. Las membranas obtenidas fueron utilizadas directamente para la extracción de ADN. Una vez preparadas las muestras, se siguió el protocolo de extracción del kit, que incluyó lisis celular, separación de inhibidores, unión del ADN a columna, lavados sucesivos y elución final.

De manera general, se añadieron 250 mg de muestra y 800 µL de solución CD1 a tubos PowerBead Pro. Los tubos fueron agitados en vortex a máxima velocidad durante 10 min y posteriormente centrifugados a 15,000 × g durante 1 min. El sobrenadante fue transferido a tubos limpios de microcentrífuga, donde se añadieron las soluciones correspondientes para la precipitación de inhibidores y unión del ADN a la membrana de la columna. Después de los lavados indicados por el fabricante, el ADN fue eluido con 100 µL de agua libre de nucleasas.

La calidad e integridad del ADN extraído se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, teñido con SYBR Green. Las muestras fueron visualizadas en transiluminador y comparadas con un marcador de peso molecular para verificar la presencia de ADN amplificable.

## 6.4 Electroforesis

La integridad del ADN extraído se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. Para ello, se preparó el gel y se colocó en la cámara de electroforesis con el tampón correspondiente. Posteriormente, se cargaron las muestras de ADN en pocillos individuales y se incluyó un marcador de peso molecular como referencia. La corrida electroforética se realizó a 80 V durante 35 min. Posteriormente, el gel fue teñido con SYBR Green durante 40 min y visualizado en transiluminador. Este procedimiento permitió verificar la presencia, integridad y calidad general del ADN obtenido antes de su amplificación por PCR.

## 6.5 Amplificación

La caracterización del microbioma se realizó mediante amplificación por PCR de regiones ribosomales específicas. Para el análisis del bacterioma se amplificó el gen 16S rRNA utilizando los cebadores universales 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'). Para el análisis del micobioma se amplificó la región ITS utilizando los cebadores NSA3 (5'-AAACTCTGTCGTGCTGGGGATA-3') y NLC2 (5'-GAGCTGCATTCCCAAACAACTC-3').

Las reacciones de PCR se realizaron por duplicado en un termociclador MiniAmp™ Plus de Applied Biosystems. Las condiciones de amplificación consistieron en una desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 min, seguida de 35 ciclos de

desnaturalización a 94 °C durante 1 min, alineamiento a 55 °C durante 1 min y extensión a 72 °C durante 1 min 30 s, con una extensión final a 72 °C durante 5 min. Los productos de PCR fueron evaluados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con SYBR Green, con el fin de confirmar la amplificación de los fragmentos esperados antes de su envío a secuenciación.

## **6.6 Secuenciación**

Los productos de PCR obtenidos fueron enviados al servicio Integrated Microbiome Resource, en Canadá, para su secuenciación. Este servicio realizó el procesamiento correspondiente de los amplicones, incluyendo la preparación de bibliotecas, indexación y secuenciación de las muestras.

La secuenciación permitió obtener lecturas correspondientes a los marcadores moleculares 16S rRNA para bacterias e ITS para hongos, las cuales fueron utilizadas posteriormente para el análisis bioinformático de la composición y diversidad de las comunidades microbianas asociadas a las matrices evaluadas.

## **6.7 Procesamiento bioinformático**

Las secuencias obtenidas fueron procesadas utilizando QIIME 2, versión 2025.4. El flujo de trabajo incluyó control de calidad, filtrado de secuencias de baja calidad, eliminación de quimeras y generación de variantes de secuencia de amplicón (ASVs). Este procedimiento permitió obtener una tabla depurada de secuencias

representativas para el análisis taxonómico y ecológico de las comunidades microbianas.

La asignación taxonómica de las secuencias bacterianas se realizó utilizando la base de datos SILVA v138, mientras que la asignación taxonómica de las secuencias fúngicas se efectuó con la base de datos UNITE v7.2. Los resultados fueron analizados a nivel de género, con la finalidad de comparar la composición microbiana entre matrices e identificar taxones compartidos y exclusivos dentro del sistema cafetalero.

### **6.8 Análisis estadístico**

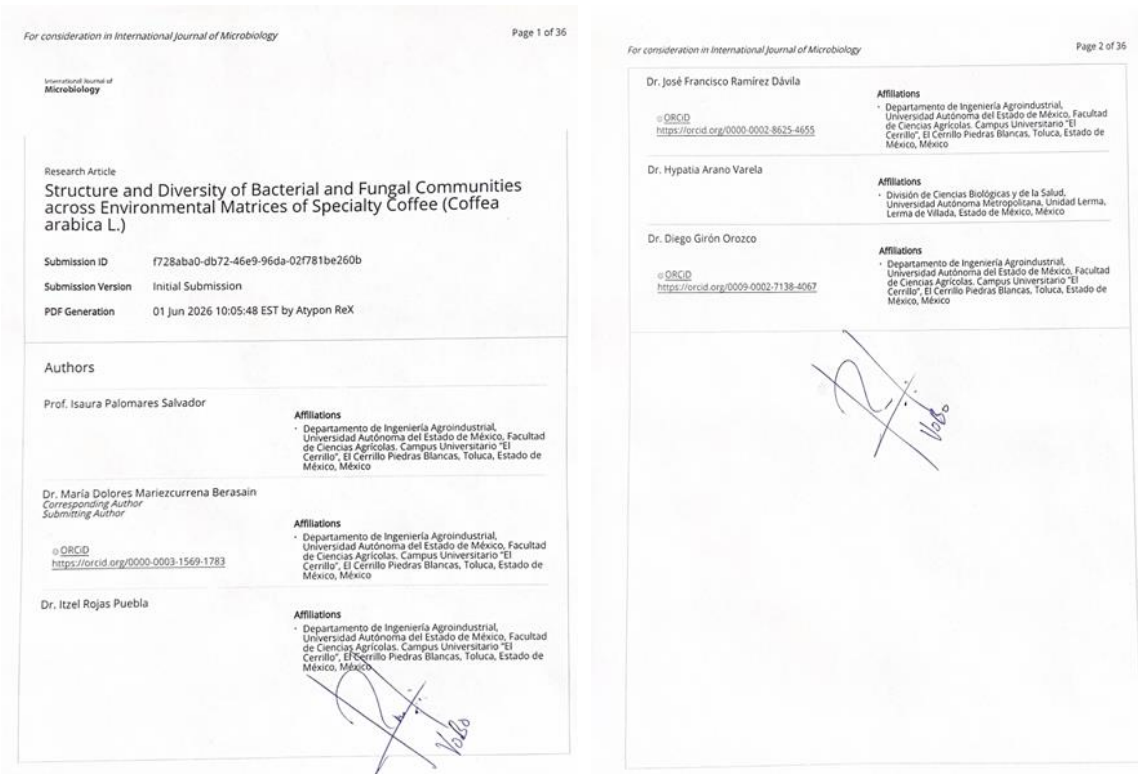
El análisis estadístico se realizó por separado para los conjuntos de datos bacterianos 16S rRNA y fúngicos ITS. Para evaluar la diversidad alfa se calcularon los índices Chao1, Shannon y Simpson, utilizando el paquete vegan, versión 2.7.2, en R versión 4.5.2. Estos índices permitieron estimar la riqueza y diversidad de las comunidades microbianas presentes en las matrices analizadas.

Para evaluar diferencias en los índices de diversidad alfa entre tipos de muestra, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis mediante la función `kruskal.test` en R. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando  $p \leq 0.05$ . La diversidad beta se evaluó mediante análisis de coordenadas principales (PCoA), basado en la disimilitud de Bray-Curtis. Las diferencias en la composición de las comunidades microbianas entre matrices fueron evaluadas mediante

PERMANOVA, utilizando la función adonis2 del paquete vegan. Este análisis permitió determinar si la estructura comunitaria difería significativamente entre los compartimentos evaluados.

Debido al alcance exploratorio del estudio, la relación entre microbioma ambiental, fermentación y calidad sensorial se interpretó de manera indirecta, a partir de la identificación taxonómica de géneros microbianos y su comparación con reportes previos en la literatura. No se realizaron análisis sensoriales, metabolómicos ni ensayos de fermentación controlada, por lo que los resultados deben entenderse como una línea base ecológica y no como evidencia causal directa sobre atributos de calidad del café.

# VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



## 7.1. Calidad de las secuencias

El procesamiento bioinformático realizado en QIIME2 permitió evaluar la calidad y recuperación de las secuencias bacterianas 16S y fúngicas ITS, obtenidas de las diferentes matrices analizadas. Para las secuencias bacterianas 16S (Tabla 1), correspondientes a once muestras, cinco de suelo, cinco de raíz y una de agua, se registraron en conjunto 513,282 secuencias de entrada, de las cuales se conservaron finalmente 327,743 secuencias no quiméricas, equivalentes a 63.85% del total inicial.

**Tabla 1. Resumen del procesamiento bioinformático y control de calidad de secuencias 16S de muestras de suelo, raíz y agua mediante QIIME2.**

<b>Muestra</b>	<b>Entrada</b>	<b>Filtradas</b>	<b>% Filtradas</b>	<b>Depuradas</b>	<b>Fusionadas</b>	<b>% Fusionadas</b>	<b>No quiméricas</b>	<b>% No quiméricas</b>
<b>Suelo</b>	24293	23879	98.3	19516	9646	39.71	8891	36.6
<b>Suelo</b>	18095	17765	98.18	15117	7699	42.55	6985	38.6
<b>Suelo</b>	50548	49779	98.48	41156	19018	37.62	17952	35.51
<b>Suelo</b>	48164	47260	98.12	39931	19270	40.01	17685	36.72
<b>Suelo</b>	26201	25787	98.42	22061	11952	45.62	10465	39.94
<b>Raíz</b>	33797	33330	98.62	33027	32134	95.08	25644	75.88
<b>Raíz</b>	77373	76223	98.51	75319	73307	94.74	69017	89.2
<b>Raíz</b>	82609	81458	98.61	80551	77662	94.01	57612	69.74
<b>Raíz</b>	66743	65619	98.32	64927	62664	93.89	48913	73.29
<b>Raíz</b>	77364	76292	98.61	74981	68222	88.18	61243	79.16
<b>Agua</b>	8095	7963	98.37	7355	6447	79.64	3336	41.21

El porcentaje de lecturas fusionadas mostró diferencias importantes entre matrices. Las muestras de raíz presentaron la mayor eficiencia de ensamblaje, con valores entre 88.18 y 95.08%, mientras que la muestra de agua mostró un valor intermedio de 79.64%. En contraste, las muestras de suelo presentaron los porcentajes más bajos de ensamblaje, con valores entre 37.62 y 45.62%. Esto indica que, aunque la calidad inicial de las lecturas fue adecuada, la recuperación de secuencias útiles en 16S dependió claramente del tipo de matriz, siendo más eficiente en raíz que en suelo.

Por otra parte, el procesamiento de las secuencias fúngicas ITS (Tabla 2), correspondiente a doce muestras, cinco de suelo, cinco de raíz, una de fruto y una de agua, mostró una recuperación más alta y homogénea. En total, se obtuvieron 1,362,297 secuencias de entrada, de las cuales 1,257,955 se conservaron como secuencias no quiméricas, lo que representó 92.34% del total inicial.

**Tabla 2. Resumen del procesamiento bioinformático y control de calidad de secuencias ITS de muestras de suelo, raíz y agua mediante QIIME2.**

<b>Muestra</b>	<b>Entrada</b>	<b>Filtradas</b>	<b>% Filtradas</b>	<b>Depuradas</b>	<b>Fusionadas</b>	<b>% Fusionadas</b>	<b>No quiméricas</b>	<b>% No quiméricas</b>
<b>Suelo</b>	60154	59183	98.39	58301	57231	95.14	56597	94.09
<b>Suelo</b>	111771	109338	97.82	108080	106338	95.14	103286	92.41
<b>Suelo</b>	127013	124356	97.91	122914	121420	95.6	118918	93.63
<b>Suelo</b>	130930	128996	98.52	127589	125076	95.53	119575	91.33
<b>Suelo</b>	129743	127562	98.32	126531	124697	96.11	116763	90
<b>Raíz</b>	93941	92749	98.73	92358	88517	94.23	87260	92.89
<b>Raíz</b>	124564	123298	98.98	123025	122275	98.16	118887	95.44
<b>Raíz</b>	199698	197817	99.06	197069	193720	97.01	178541	89.41
<b>Raíz</b>	127476	126307	99.08	125828	124671	97.8	120317	94.38
<b>Raíz</b>	208242	205181	98.53	204715	203336	97.64	190503	91.48
<b>Fruto</b>	26473	26013	98.26	25908	25686	97.03	25615	96.76
<b>Agua</b>	22292	22028	98.82	21902	21705	97.37	21693	97.31

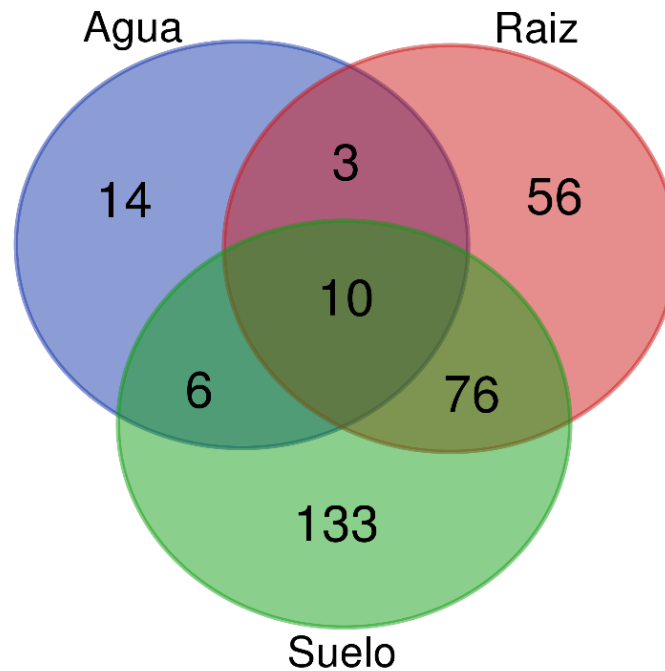
A diferencia de lo observado en 16S, las secuencias ITS presentaron altos porcentajes de fusión en todas las matrices. Las muestras de suelo registraron valores de ensamblaje entre 95.14 y 96.11%, las de raíz entre 94.23 y 98.16%, mientras que fruto y agua alcanzaron 97.03% y 97.37%, respectivamente. En conjunto, estos resultados muestran que el procesamiento de ITS tuvo una mayor estabilidad y eficiencia bioinformática, con una menor pérdida relativa de secuencias durante el ensamblaje y la eliminación de quimeras.

Todas las lecturas crudas fueron depositadas en el NCBI Sequence Read Archive (SRA) y están disponibles bajo el BioProject PRJNA1463875.

## **7.2. Diversidad bacteriana y conectividad entre matrices**

El análisis de diversidad de las comunidades bacterianas presentes en las matrices de suelo, raíz y agua evidenció la existencia de un núcleo microbiano compartido (Figura 1), conformado por diez géneros bacterianos: *Acinetobacter*, *Caulobacter*, *Acidibacter*, *Methylobacterium-Methylorubrum*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Flavobacterium*, *Novosphingobium* y *Aquicella*. La presencia de estos géneros en los tres compartimentos sugiere una conectividad ecológica dentro del sistema cafetalero, así como la posible existencia de rutas de dispersión microbiana entre suelo, raíz y agua. De manera complementaria, se observó una mayor riqueza bacteriana exclusiva en el suelo, con 133 géneros, seguida por la raíz con 56 géneros, mientras que el agua presentó 14 géneros exclusivos. Este patrón refuerza la idea de que el suelo funciona como un reservorio primario de diversidad microbiana, mientras que la raíz representa un ambiente de selección

biológica más estrechamente regulado por la planta, y el agua puede actuar como una matriz de transferencia y dispersión microbiana dentro del sistema.



**Figura 1.** Diagrama de Venn de los géneros bacterianos compartidos y exclusivos entre las matrices evaluadas.

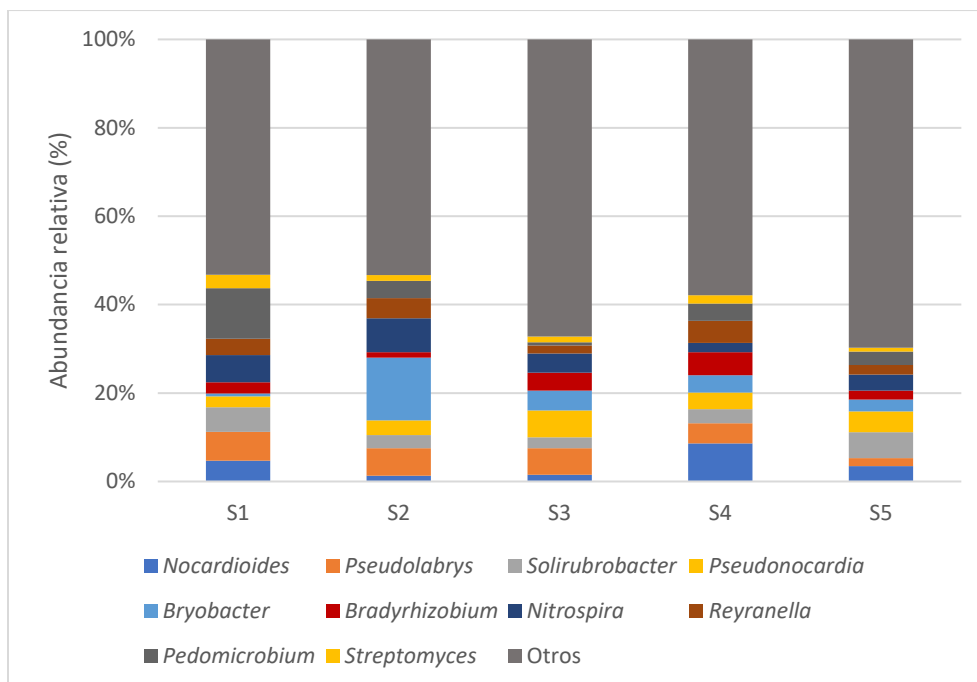
Asimismo, se identificaron fracciones compartidas entre pares de matrices (suelo-raíz, raíz-agua y agua-suelo), lo que sugiere la existencia de flujos microbianos e interacciones ecológicas específicas entre estos compartimentos. Desde un punto de vista funcional, el núcleo bacteriano compartido resulta relevante porque incluye géneros con elevada versatilidad metabólica, capaces de utilizar compuestos orgánicos complejos y participar en procesos de biodegradación, reciclaje de carbono y transformación de sustratos. Algunos de estos microorganismos han sido relacionados con la degradación de compuestos aromáticos y otros contaminantes

orgánicos, incluso mediante el uso de hidrocarburos como fuente de carbono (Mock & Summers, 2024; Lv *et al.*, 2024).

En el contexto de la fermentación del café, estas capacidades podrían ser importantes no porque todos estos microorganismos actúen directamente como fermentadores dominantes, sino porque forman parte del reservorio ambiental que puede condicionar la colonización del fruto, la disponibilidad de metabolitos y la sucesión microbiana durante el procesamiento postcosecha. Por tanto, la presencia de este núcleo bacteriano compartido sugiere que la dinámica fermentativa del café no depende únicamente de la microbiota asociada al fruto, sino también de la interacción ecológica entre las diferentes matrices del sistema cafetalero (Rubio-Noguez *et al.*, 2024; Pandolfo *et al.*, 2024).

### **7.3. Abundancia relativa bacteriana**

El análisis de la abundancia relativa de las comunidades bacterianas en suelo (Figura 2) evidenció la predominancia de diversos géneros funcionalmente relevantes, entre los que destacan *Bradyrhizobium*, *Bryobacter*, *Nitrospira*, *Nocardioide*s, *Pedomicrobium*, *Pseudolabrys*, *Pseudonocardia*, *Reyranella*, *Solirubrobacter* y *Streptomyces*. La distribución de estos taxones a lo largo de las distintas muestras sugiere una estructura comunitaria compleja, caracterizada por la coexistencia de microorganismos con roles metabólicos complementarios dentro del ecosistema edáfico (Ge *et al.*, 2023).



**Figura 2.** Composición taxonómica a nivel de género en suelo. Los valores dentro de las barras representan la abundancia relativa de cada género según la secuenciación 16S.

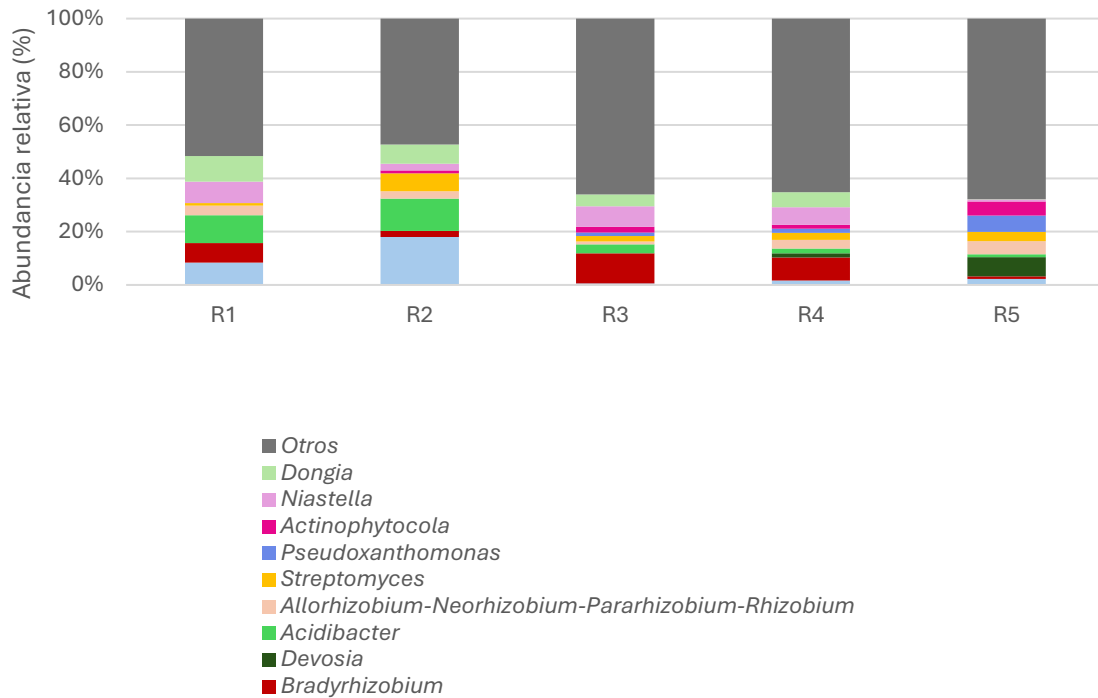
Desde un punto de vista funcional, estos géneros presentan capacidades asociadas con la producción de enzimas extracelulares implicadas en la descomposición de residuos vegetales, el reciclaje de carbono y la mineralización de la materia orgánica (Rosabal *et al.*, 2021, Tanya & Leiva-Mora, 2019). Asimismo, algunos de estos microorganismos pueden participar en procesos de nitrificación, degradación de compuestos aromáticos y producción de metabolitos antimicrobianos. En particular, *Nitrospira* destaca por su papel en el ciclo del nitrógeno, mientras que *Pseudonocardia* y *Streptomyces* pueden influir en la regulación de la comunidad microbiana debido a su capacidad biosintética y a la producción de compuestos bioactivos (Alam *et al.*, 2022; Mehrani *et al.*, 2020; Whatmough *et al.*, 2024).

Además, varios de estos géneros han sido relacionados con la degradación de compuestos orgánicos complejos, incluyendo hidrocarburos, plaguicidas y solventes, lo que resalta su importancia en procesos de biotransformación y detoxificación dentro del suelo (Rosabal *et al.*, 2021).

En esta investigación, la abundancia bacteriana relativa observada refleja un microbioma edáfico altamente especializado. Por ello, el suelo puede interpretarse no solo como un compartimento de alta diversidad, sino también como una fuente funcional que podría influir indirectamente en la calidad del café. Al modular la nutrición vegetal, el equilibrio microbiano y la disponibilidad de compuestos orgánicos, el microbioma del suelo puede condicionar las características del fruto y el sustrato disponible durante la fermentación. Esto resulta relevante porque las bacterias son elementos clave en la fermentación del café (Mahatmanto *et al.*, 2023) y algunos géneros presentes en el suelo (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Leuconostoc*) podrían participar en la sucesión microbiana y en la formación de metabolitos asociados con el perfil sensorial del café (Ma *et al.*, 2023; Pothakos *et al.*, 2020).

El análisis de las comunidades bacterianas asociadas a la raíz (Figura 3) evidenció la dominancia de géneros como *Acidibacter*, *Actinophytocola*, *Allorhizobium–Neorhizobium–Pararhizobium–Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Devosia*, *Dongia*, *Hyphomicrobium*, *Niastella*, *Pseudoxanthomonas* y *Streptomyces*. Esta composición sugiere una comunidad rizosférica funcionalmente diversa, relacionada con la interacción planta–microorganismo, la fijación biológica de

nitrógeno y la promoción del crecimiento vegetal (Reséndez *et al.*, 2018; Rodríguez-Sahagún *et al.*, 2020).



**Figura 3.** Composición taxonómica a nivel de género en raíz. Los valores dentro de las barras representan la abundancia relativa de cada género según la secuenciación 16S

Además, varios de estos géneros presentan capacidades metabólicas asociadas con la degradación de compuestos orgánicos complejos, incluyendo lignina, celulosa, hidrocarburos y compuestos aromáticos, lo que evidencia su participación en el reciclaje de nutrientes y la transformación del sustrato (Mousavi *et al.*, 2014). En particular, *Streptomyces* y *Actinophytocola* destacan por su potencial biosintético y por la producción de antibióticos y otros compuestos bioactivos, los cuales pueden

influir en la dinámica microbiana de la rizosfera y en la supresión de patógenos (Alam *et al.*, 2022; Hopwood, 2007). En este sentido, la raíz puede entenderse como una zona de selección microbiana donde la planta favorece microorganismos asociados con nutrición, protección y transformación de compuestos orgánicos. Esto podría influir indirectamente en la calidad del café, al contribuir al estado fisiológico de la planta y a las características del fruto que posteriormente será sometido a fermentación.

Adicionalmente el análisis de las comunidades bacterianas asociadas al agua evidenció la presencia de los géneros *Aquabacterium*, *Arcicella*, *Caulobacter*, *Duganella*, *Emticicia*, *Exiguobacterium*, *Flavobacterium*, *Pseudoduganella*, *Pseudomonas* y *Stenotrophomonas*. La composición observada es consistente con comunidades microbianas típicas de ambientes acuáticos y sistemas asociados, incluyendo biofilms, sedimentos, suelos y superficies vegetales, lo que sugiere una alta capacidad de adaptación a condiciones ambientales variables. Muchos de estos géneros poseen la capacidad de producir enzimas extracelulares implicadas en la degradación de carbohidratos, proteínas, lípidos y otros compuestos orgánicos complejos, lo que favorece la transformación y mineralización de la materia orgánica. Asimismo, géneros como *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Caulobacter* y *Duganella* participan en la degradación de exudados vegetales, en el reciclaje de carbono y en la competencia con microorganismos potencialmente patógenos, lo que sugiere un papel relevante en la regulación de la dinámica microbiana y en el mantenimiento del equilibrio ecológico del sistema (Letizia *et al.*, 2025; Nikitin *et al.*, 2004).

## 7.4. Diversidad alfa ( $\alpha$ ) y beta ( $\beta$ ) bacteriana

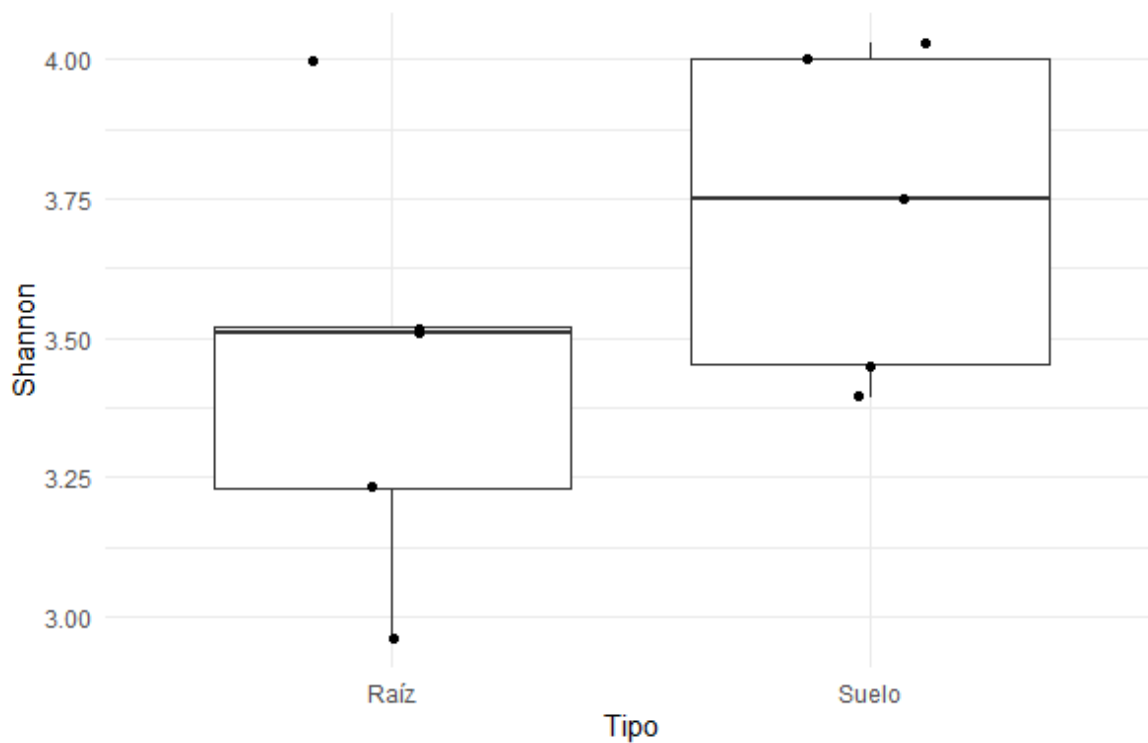
### 7.4.1. Diversidad $\alpha$

Los índices correspondientes a la diversidad alfa ( $\alpha$ ) de las comunidades bacterianas se muestran en la Tabla 3, estos fueron consistentes entre los tipos de muestra (suelo y raíz), sin diferencias estadísticamente significativas. En cuanto al índice de riqueza, las muestras de suelo presentaron valores más altos (51–104) en comparación con las de raíz (28–103), lo que sugiere una mayor amplitud taxonómica en el suelo. De igual manera, el estimador Chao1 reflejó la misma tendencia, indicando que el potencial de riqueza no observada sigue este mismo patrón.

**Tabla 3. Diversidad  $\alpha$  bacteriana**

<b>Muestra</b>	<b>Riqueza</b>	<b>Shannon</b>	<b>Simpson</b>	<b>Chao1</b>
<b>Suelo</b>	51	3.393512	0.9540509	51
<b>Suelo</b>	54	3.451430	0.9513249	54
<b>Suelo</b>	99	4.028735	0.9743847	99
<b>Suelo</b>	104	4.001484	0.9715306	104
<b>Suelo</b>	72	3.749582	0.9675162	72
<b>Raíz</b>	28	2.962510	0.9362282	28
<b>Raíz</b>	58	3.230669	0.9279961	58
<b>Raíz</b>	52	3.508351	0.9579578	52
<b>Raíz</b>	53	3.518476	0.9588681	53
<b>Raíz</b>	103	3.995931	0.9724248	103

El índice de Shannon (Tabla 3) presentó valores más elevados en suelo (3.39–4.03) respecto a la raíz (2.96–3.99), lo que puede indicar comunidades bacterianas de mayor diversidad en el suelo. Esta tendencia se observó también en la distribución de los datos (Figura 4), donde el suelo presentó una mediana superior y mayor dispersión en comparación con la raíz. Por su parte, el índice de Simpson (Tabla 3) mostró valores altos en ambos tipos de muestra (0.93–0.97), lo que sugiere baja dominancia de taxones individuales y una distribución relativamente homogénea de abundancias, con una ligera tendencia hacia mayor equidad en el suelo.



**Figura 4.** Distribución del índice de Shannon en comunidades bacterianas de suelo y raíz.

Por otra parte, la prueba de Kruskal–Wallis (Tabla 4) indicó que estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, lo que sugiere que la variabilidad intra-grupo es comparable a la variación entre tipos de muestra.

**Tabla 4. Prueba de Kruskal–Wallis para comunidades bacterianas**

<b>Tipo</b>	<b>chi-squared</b>	<b>df</b>	<b>p-value</b>
<b>Shannon</b>	1.32	1	0.2506
<b>Riqueza</b>	0.88364	1	0.3472
<b>Simpson</b>	0.88364	1	0.3472

La ausencia de diferencias significativas en la diversidad  $\alpha$  puede explicarse porque tanto el suelo como la raíz constituyen ambientes capaces de sostener comunidades bacterianas altamente diversas. Es decir, ambos compartimentos pueden mantener niveles comparables de riqueza y equidad, aunque esto no necesariamente implica que estén conformados por los mismos taxones bacterianos. En este sentido, la raíz no necesariamente reduce la diversidad bacteriana, sino que puede reorganizar la estructura comunitaria mediante la sustitución de taxones generalistas del suelo por microorganismos más especializados en la interacción planta-microbio. Este patrón es consistente con modelos de ensamblaje ecológico en los que predominan procesos deterministas sobre procesos neutros en ambientes altamente influenciados por el hospedero (Fierer & Jackson, 2006; Shade *et al.*, 2012).

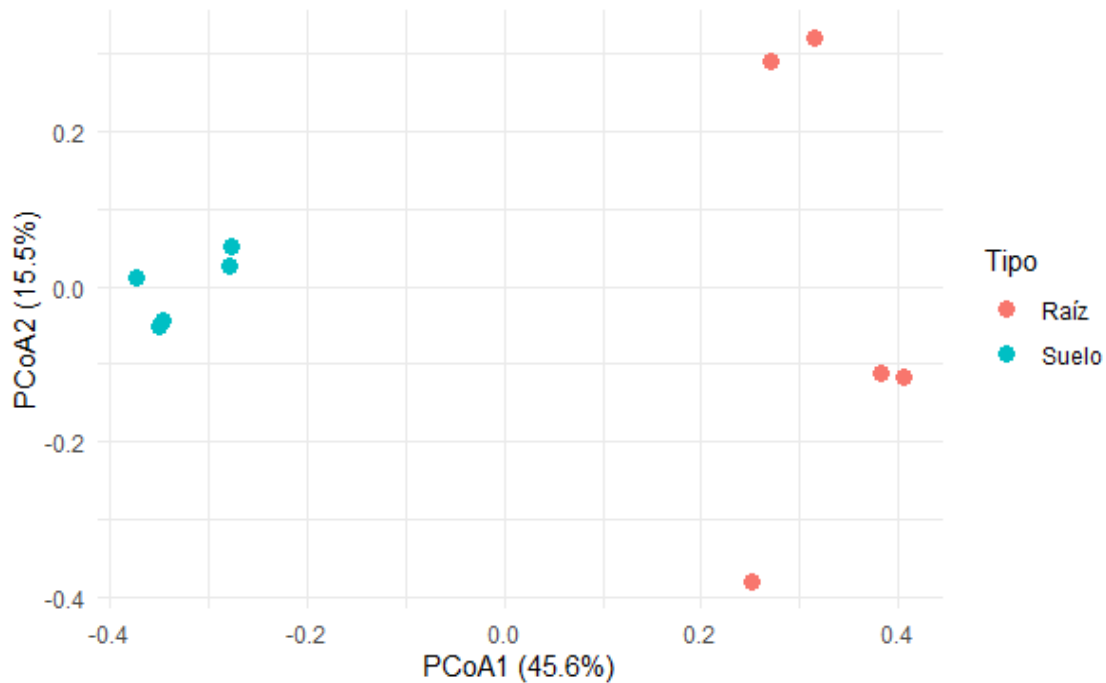
#### 7.4.2. Diversidad $\beta$

Por su parte, el análisis de diversidad beta ( $\beta$ ) presentó diferencias significativas en la composición de las comunidades bacterianas entre suelo y raíz. El análisis PERMANOVA (Tabla 5) mostró un efecto significativo del tipo de muestra sobre la estructura comunitaria ( $F= 21.483$ ,  $R^2= 0.72865$ ,  $p= 0.005$ ), indicando que el 72.86% de la variación total en la composición bacteriana es explicado por el tipo de muestra.

**Tabla 5. Análisis PERMANOVA de las comunidades bacterianas**

	<b>Df</b>	<b>SumOfSqs</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>F</b>	<b>Pr(&gt;F)</b>
<b>Model</b>	1	1.05635	0.72865	21.483	0.005 **
<b>Residual</b>	8	0.39338	0.27135		
<b>Total</b>	9	1.44973	1.00000		

La ordenación mediante análisis de coordenadas principales (PCoA) basada en la distancia de Bray–Curtis (Figura 5) evidenció una clara separación entre ambos grupos. El primer eje explicó el 45.6% de la variación, mientras que el segundo eje explicó el 15.5%, acumulando el 61.1% de la variabilidad total. Las muestras de suelo se agruparon en valores negativos del eje principal, mientras que las de raíz se distribuyeron en valores positivos, mostrando una segregación bien definida entre ambos nichos. Asimismo, la baja dispersión dentro de cada grupo sugiere una estructura comunitaria relativamente consistente al interior de cada tipo de muestra.



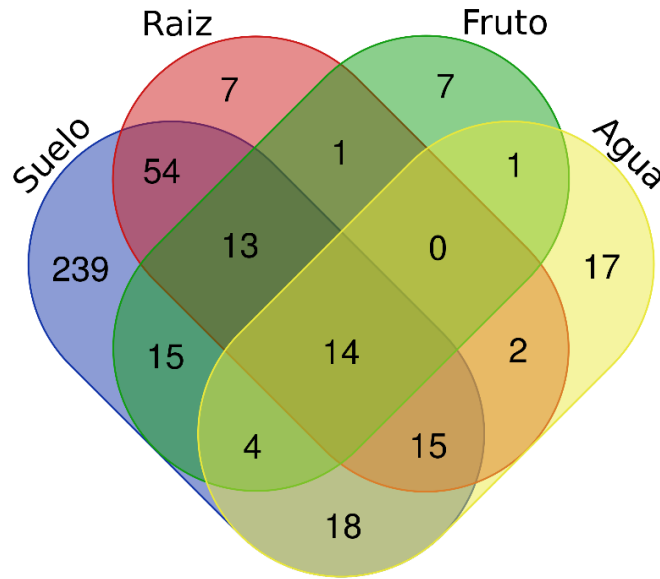
**Figura 5.** Análisis de coordenadas principales (PCoA) basado en la distancia de Bray-Curtis para evaluar la estructura de la comunidad bacteriana entre muestras. Cada punto representa una muestra (azul = suelo, rojo = raíz). Los ejes indican el porcentaje de variación explicada. Las diferencias entre grupos se evaluaron mediante PERMANOVA ( $p = 0.005$ ,  $R^2 = 0.7286$ ).

A pesar de que la diversidad  $\alpha$  no mostró diferencias significativas entre suelo y raíz, la diversidad  $\beta$  evidenció una clara diferenciación en la composición de las comunidades bacterianas. Esto indica que ambos compartimentos mantienen niveles comparables de riqueza y equidad, pero con ensamblajes taxonómicos distintos, lo que sugiere un recambio de especies, o *turnover*, más que cambios en la diversidad total, fenómeno ampliamente documentado en microbiomas asociados a plantas (Bulgarelli *et al.*, 2013; Lundberg *et al.*, 2012). Esta separación puede

atribuirse a un fuerte efecto de filtrado ambiental en la rizosfera, mediado por exudados radiculares, gradientes fisicoquímicos y compuestos bioactivos que seleccionan subconjuntos específicos de microorganismos provenientes del suelo circundante (Berendsen *et al.*, 2012; Bulgarelli *et al.*, 2013). Además, la composición del microbioma vegetal puede estar fuertemente estructurada por la identidad del hospedero y su entorno, generando comunidades distintas incluso cuando la diversidad  $\alpha$  permanece estable (Delmotte *et al.*, 2009; Engel & Moran, 2013). Finalmente se observó que la diferenciación entre suelo y raíz fue impulsada principalmente por cambios en la identidad y abundancia relativa de los taxones (diversidad  $\beta$ ), más que por variaciones en la diversidad total (diversidad  $\alpha$ ), lo que resalta la importancia de evaluar la diversidad  $\beta$  para comprender los procesos ecológicos que estructuran el microbioma asociado a plantas

### **7.5. Diversidad fúngica y conectividad entre matrices**

El análisis comparativo de las comunidades fúngicas asociadas a las matrices de suelo, raíz, fruto y agua permitió identificar un núcleo compartido (Figura 6) conformado por 14 géneros: *Acremonium*, *Periconia*, *Vishniacozyma*, *Clonostachys*, *Shiraia*, *Papiliotrema*, *Alternaria*, *Symmetrospora*, *Penicillium*, *Sarocladium*, *Aspergillus*, *Exophiala*, *Setophoma* y *Diaporthe*. La presencia simultánea de estos taxones en los distintos compartimentos sugiere la existencia de un conjunto funcionalmente versátil de hongos, con alta capacidad de adaptación a nichos ecológicos contrastantes dentro del sistema cafetalero (Braga *et al.*, 2023; Fu *et al.*, 2024).



**Figura 6.** Diagrama de Venn de los géneros fúngicos compartidos y exclusivos entre las matrices evaluadas.

Adicionalmente, se observó una mayor riqueza fúngica diferenciada en el suelo, con 239 géneros, seguida por el agua con 17 géneros, la raíz con 7 géneros y el fruto con 7 géneros exclusivos. Este patrón evidencia una estructuración espacial del microbioma determinada por las condiciones fisicoquímicas específicas de cada matriz. Asimismo, la presencia de géneros compartidos entre combinaciones parciales de matrices sugiere posibles rutas de dispersión y transferencia microbiana, así como interacciones ecológicas entre los distintos compartimentos del sistema (Caamal-Chan *et al.*, 2022).

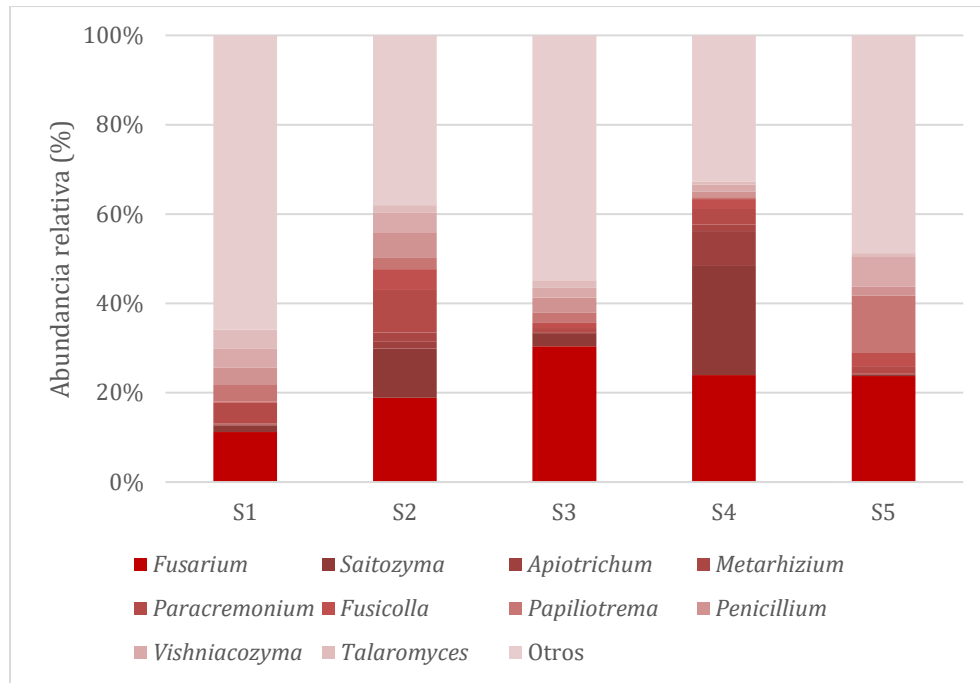
Desde una perspectiva funcional, estos hongos presentan un metabolismo predominantemente heterótrofo y capacidad para secretar enzimas extracelulares, incluyendo celulasas, hemicelulasas, pectinasas, proteasas y ligninasas. Estas

enzimas permiten degradar biomasa vegetal, liberar azúcares simples y transformar compuestos estructurales del sustrato (Chukwuma *et al.*, 2020). Por ello, el microbioma ambiental puede contribuir de manera importante a los procesos de descomposición, reciclaje de materia orgánica y disponibilidad de precursores metabólicos durante la fermentación del café (Azhari & Supratman, 2021; Sun *et al.*, 2020).

### **7.6. Abundancia relativa fúngica**

El análisis de las comunidades fúngicas de suelo (Figura 7) permitió identificar la presencia de los géneros *Apiotrichum*, *Fusarium*, *Fusicolla*, *Metarhizium*, *Papiliotrema*, *Paracremonium*, *Penicillium*, *Saitozyma*, *Talaromyces* y *Vishniacozyma*, los cuales conforman un ensamblaje funcionalmente diverso asociado a la degradación de materia orgánica. Estos microorganismos presentan un metabolismo heterótrofo, obteniendo carbono y energía a partir de compuestos orgánicos disponibles en el ambiente, tales como glucosa, polisacáridos vegetales, lípidos y proteínas (Benocci *et al.*, 2017; Rabha & Jha, 2017). Desde una perspectiva funcional, estos hongos poseen la capacidad de producir enzimas extracelulares, incluyendo celulasas, xilanasas, pectinasas y proteasas, las cuales participan en la degradación de compuestos complejos como celulosa, hemicelulosa, pectina y proteínas, e incluso lignina en ciertos casos. La acción de estas enzimas permite la despolimerización de la biomasa vegetal en azúcares simples, que posteriormente son incorporados a rutas metabólicas centrales, facilitando la mineralización y el reciclaje de nutrientes en el sistema (Huang *et al.*, 2015; Tanya & Leiva-Mora, 2019; Zhao *et al.*, 2023). Adicionalmente, algunos

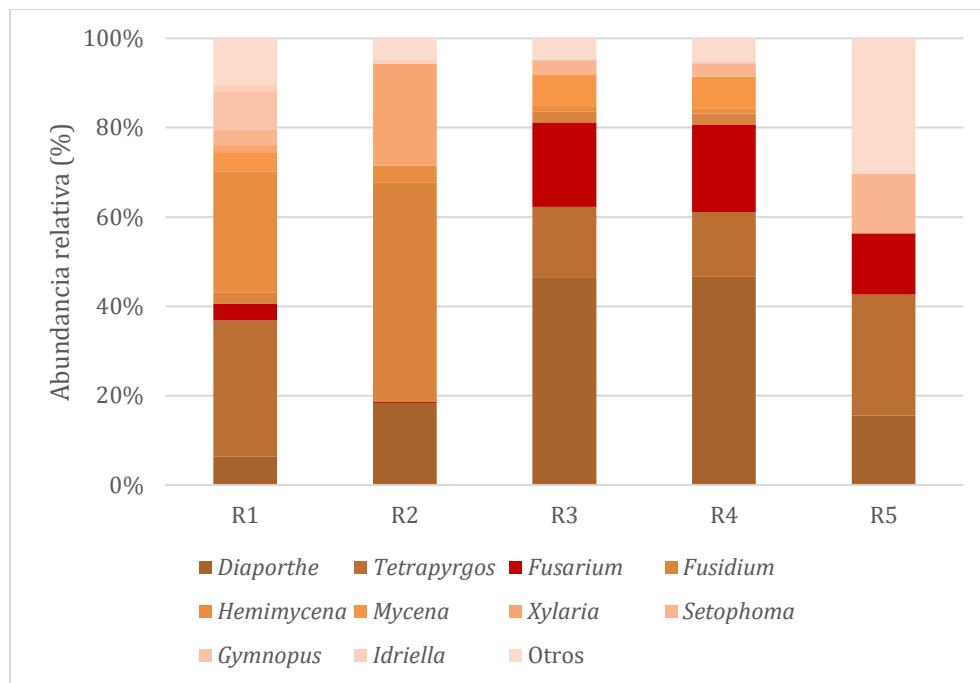
géneros como *Penicillium* y *Talaromyces* destacan por su capacidad biosintética para producir una amplia diversidad de metabolitos secundarios, incluyendo antibióticos, toxinas y otros compuestos bioactivos, lo cual puede influir tanto en la competencia microbiana como en la calidad del sustrato durante el proceso fermentativo (Houbraken & Samson, 2011; Rabha & Jha, 2017).



**Figura 7.** Composición taxonómica a nivel de género en suelo. Los valores dentro de las barras representan la abundancia relativa de cada género según la secuenciación ITS.

El análisis del microbioma radicular permitió identificar la presencia de los géneros *Diaporthe*, *Fusarium*, *Fusidium*, *Gymnopus*, *Hemimycena*, *Idriella*, *Mycena*, *Setophoma*, *Tetrapyrgos* y *Xylaria* como se muestra en la Figura 8, los cuales conforman un ensamblaje fúngico estrechamente asociado a la degradación de materia orgánica vegetal. Algunos de estos microorganismos presentan un

metabolismo heterótrofo, obteniendo carbono y energía a partir de compuestos orgánicos, principalmente derivados de tejidos vegetales y materia orgánica en descomposición (Szűcs *et al.*, 2018). Estos se caracterizan por la secreción de enzimas extracelulares, tales como amilasas, xilanasas, pectinasas, proteasas y ligninasas, las cuales permiten la degradación de lignocelulosa y de las paredes celulares vegetales, en conjunto, estos géneros forman parte del grupo de hongos lignocelulolíticos y descomponedores, desempeñando un papel fundamental en la degradación de biomasa vegetal y en el reciclaje de carbono en ecosistemas terrestres (Peraza-Jiménez *et al.*, 2021), lo que resalta su relevancia en la dinámica de nutrientes y en la transformación del sustrato dentro del sistema estudiado.



**Figura 8.** Composición taxonómica a nivel de género en raíz. Los valores dentro de las barras representan la abundancia relativa de cada género según la secuenciación ITS.

El análisis de la comunidad fúngica en agua evidenció la presencia de los géneros *Aspergillus*, *Bisifusarium*, *Candida*, *Coniochaeta*, *Ilyonectria*, *Penicillium*, *Plectosphaerella*, *Strelitziana*, *Thelonectria* y *Walteergamsia*, los cuales conforman un ensamblaje funcionalmente diverso asociado a la degradación de materia orgánica compleja. Algunos de estos hongos participan activamente en los procesos de fermentación y en la calidad sensorial de la bebida, donde contribuyen a la transformación bioquímica del mucílago y a la generación de compuestos aromáticos (Elhalis *et al.*, 2022; Shen *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2025). *Aspergillus* ha sido utilizado como cultivo iniciador debido a su capacidad pectinolítica, acelerando la fermentación e incrementando la concentración de azúcares reductores, lo que favorece una intensificación del sabor del café mediante la producción de péptidos, aminoácidos y azúcares (Elhalis *et al.*, 2022). Por otro lado, *Candida* se ha relacionado con notas cítricas, afrutadas, de caramelo y con una mayor acidez en la bebida, debido a su capacidad para generar compuestos volátiles que enriquecen el perfil sensorial del café (Bressani *et al.*, 2021). *Penicillium* ha sido asociado con notas herbales y florales (Shen *et al.*, 2024). En conjunto, estas capacidades metabólicas posicionan a estos hongos como actores clave en la transformación del sustrato y el reciclaje de nutrientes, con posibles implicaciones en los procesos fermentativos y en la calidad del producto final.

El análisis de la comunidad fúngica del fruto permitió identificar la presencia de los géneros *Alternaria*, *Diaporthe*, *Erythrobasidium*, *Fusarium*, *Kurtzmaniella*, *Papiliotrema*, *Rhodosporidiobolus*, *Saccharomyces*, *Strelitziana* y *Vishniacozyma*, los cuales conforman un ensamblaje funcionalmente diverso asociado al

aprovechamiento de compuestos orgánicos en el sistema. Estos hongos obtienen energía y carbono a partir de una amplia variedad de sustratos, incluyendo azúcares, lípidos y polímeros vegetales. Además, producen enzimas extracelulares capaces de degradar la pared celular vegetal y otros componentes de la materia orgánica, facilitando la descomposición de estructuras complejas y la liberación de compuestos más simples que pueden ser incorporados a rutas metabólicas centrales (Huang *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2019). *Saccharomyces* destaca por su elevada producción de etanol y actividad pectinolítica, contribuyendo a la formación de compuestos aromáticos florales y afrutados durante la fermentación (Shen *et al.*, 2024). Además, los géneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Kurtzmaniella*, *Papiliotrema*, *Saccharomyces*, *Strelitziana* y *Vishniacozyma* se han aislado de frutos y durante procesos fermentativos de café (Braga *et al.*, 2023; Fu *et al.*, 2024; Shen *et al.*, 2024).

## **7.7. Diversidad alfa ( $\alpha$ ) y beta ( $\beta$ ) fúngica**

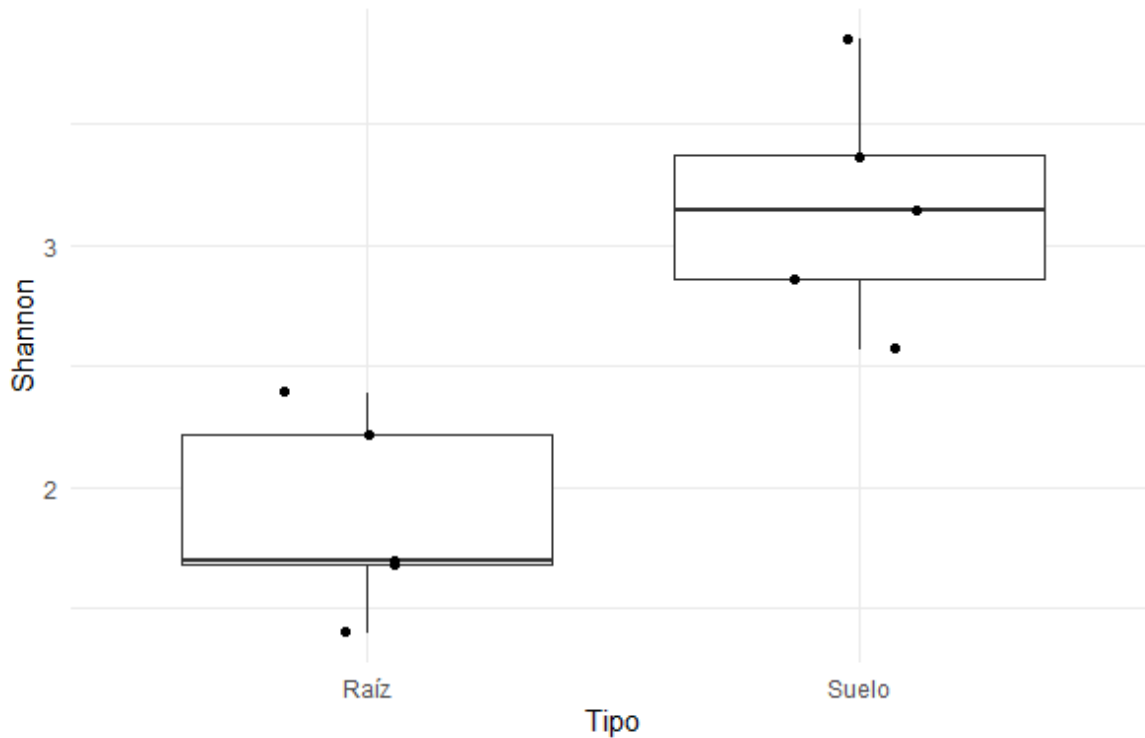
### **7.7.1. Diversidad $\alpha$**

La diversidad alfa ( $\alpha$ ) de las comunidades fúngicas mostró diferencias claras entre suelo y raíz como se observa en la Tabla 6, esto evidencia un patrón de mayor diversidad en el suelo. El índice de riqueza fue superior en suelo (108–175) en comparación con raíz (30–56), lo que indica una mayor amplitud taxonómica en este compartimento. Este patrón fue igual al índice Chao1, lo que sugiere que la riqueza no observada sigue esta misma tendencia.

**Tabla 6. Diversidad  $\alpha$  fúngica**

<b>Muestra</b>	<b>Riqueza</b>	<b>Shannon</b>	<b>Simpson</b>	<b>Chao 1</b>
<b>Suelo</b>	164	3.847862	0.9619795	164
<b>Suelo</b>	169	3.372136	0.9293271	169
<b>Suelo</b>	175	3.141675	0.8830064	175
<b>Suelo</b>	162	2.860093	0.8692088	162
<b>Suelo</b>	108	2.566766	0.8633585	108
<b>Raíz</b>	56	2.220104	0.8159856	56
<b>Raíz</b>	30	1.397230	0.6694901	30
<b>Raíz</b>	52	1.681344	0.7168081	52
<b>Raíz</b>	47	1.700156	0.7157074	47
<b>Raíz</b>	51	2.391223	0.8558741	51

El índice de Shannon (Tabla 6) presentó valores mayores en suelo (2.56–3.85) respecto a raíz (1.39–2.39), lo que indica diversas comunidades y con una distribución más uniforme de abundancias (Figura 9). De igual manera, el índice de Simpson (Tabla 6) mostró valores más altos en suelo (0.86–0.96) que en raíz (0.66–0.86), lo que sugiere una menor dominancia de taxones individuales en el suelo y mayor dominancia en las comunidades radiculares.



**Figura 9.** Distribución del índice de Shannon en comunidades fúngicas de suelo y raíz.

La prueba de Kruskal–Wallis (Tabla 7) mostro diferencias estadísticamente significativas ( $\chi^2 = 6.8182$ ,  $p = 0.009$ ), indicando que tanto la riqueza como la estructura de abundancias de las comunidades fúngicas son diferentes significativamente entre tipo de muestra. Estos resultados sugieren que la raíz tiene un ambiente más restrictivo para los hongos, en el que solo ciertos taxones logran establecerse.

**Tabla 7. Prueba de Kruskal–Wallis para comunidades fúngicas**

Tipo	chi-squared	df	p-value
Shannon	6.8182	1	0.009023
Riqueza	6.8182	1	0.009023
Simpson	6.8182	1	0.009023

### 7.7.2. Diversidad $\beta$

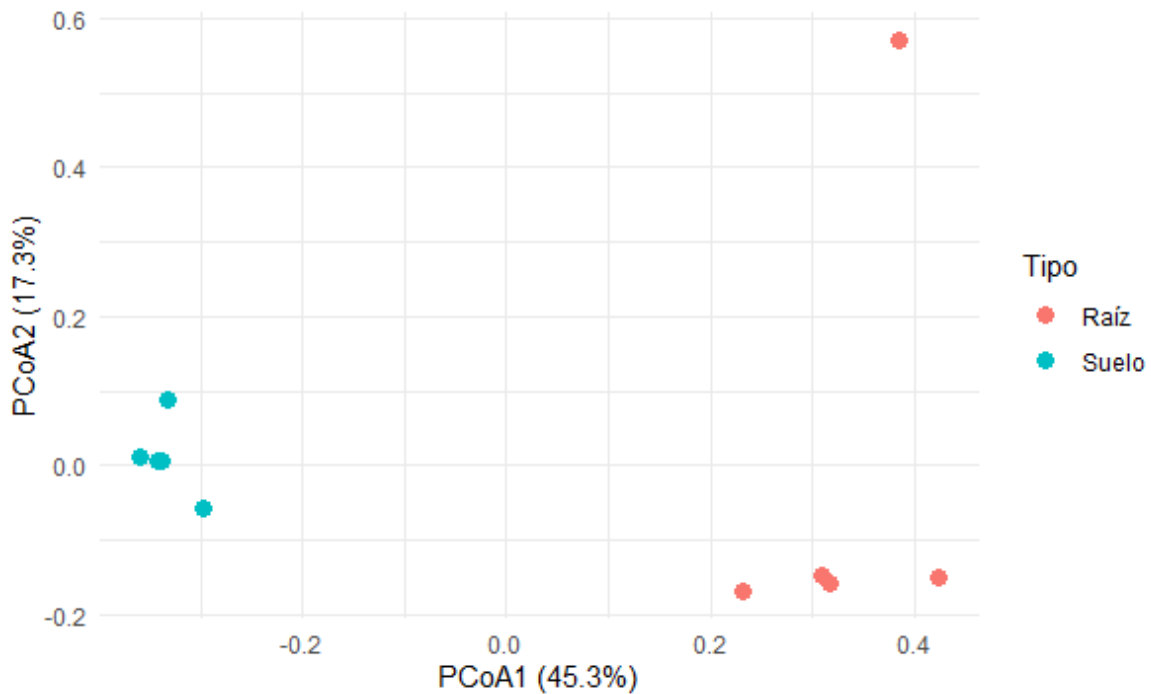
El análisis de diversidad beta ( $\beta$ ) reveló diferencias significativas en la composición de las comunidades fúngicas entre suelo y raíz. El análisis PERMANOVA (Tabla 8) mostró un efecto significativo del tipo de muestra ( $F = 19.481$ ,  $R^2 = 0.70889$ ,  $p = 0.003$ ), indicando que el 70.89% de la variación total en la composición comunitaria es explicada por este factor.

**Tabla 8. Análisis PERMANOVA de las comunidades fúngicas**

	Df	SumOfSqs	R2	F	Pr(>F)
<b>Model</b>	1	1.11463	0.70889	19.481	0.003 **
<b>Residual</b>	8	0.45774	0.29111		
<b>Total</b>	9	1.57237	1.00000		

El PCoA basado en la distancia de Bray–Curtis (Figura 10) evidenció una clara separación entre ambos grupos. El primer eje (eje X) explicó el 45.3% de la variación, mientras que el segundo eje (eje Y) explicó el 17.3%, acumulando el

62.6% de la variabilidad total. Las muestras de suelo se agruparon en una región diferenciada de las muestras de raíz, las cuales se ubicaron en un sector opuesto, lo que refleja diferencias en la identidad y abundancia relativa de los taxones fúngicos. Además, la baja dispersión dentro de cada grupo sugiere una estructura comunitaria relativamente consistente al interior de cada tipo de muestra.



**Figura 10.** Análisis de coordenadas principales (PCoA) basado en la distancia de Bray-Curtis para evaluar la estructura de la comunidad fúngica entre muestras. Cada punto representa una muestra (azul = suelo, rojo = raíz). Los ejes indican el porcentaje de variación explicada. Las diferencias entre grupos se evaluaron mediante PERMANOVA ( $p = 0.005$ ,  $R^2 = 0.7286$ ).

Los resultados evidencian que las comunidades fúngicas difieren significativamente entre suelo y raíz tanto en diversidad  $\alpha$  como en composición (diversidad  $\beta$ ), lo que

indica un efecto selectivo del ambiente radicular. A diferencia de las bacterias, donde la diversidad  $\alpha$  se mantuvo relativamente estable, los hongos mostraron una reducción significativa en riqueza y equidad en la raíz, reflejando un filtrado ambiental más restrictivo. La mayor diversidad en el suelo concuerda con estudios que lo describen como un reservorio altamente diverso con múltiples estrategias ecológicas (Bahram *et al.*, 2018), mientras que la raíz actúa como un nicho selectivo donde las interacciones planta–hongo, la disponibilidad de recursos y las defensas del hospedero limitan el establecimiento de muchos taxones (Li *et al.*, 2022).

La disminución en los índices de Shannon y Simpson en la raíz sugiere menor riqueza y mayor dominancia de grupos especializados capaces de colonizar tejidos vegetales, un patrón que ha sido reportado en microbiomas radiculares (Peay *et al.*, 2016; Toju *et al.*, 2018). En concordancia, las diferencias en diversidad  $\beta$  observadas mediante PERMANOVA y PCoA indican que la raíz reduce la diversidad y reestructura la composición comunitaria mediante procesos de ensamblaje determinista, donde factores bióticos y abióticos actúan como filtros selectivos (Vandenkoornhuyse *et al.*, 2015).

Asimismo, la separación entre suelo y raíz sugiere un bajo solapamiento de taxones fúngicos, reforzando que la raíz no es un subconjunto aleatorio del suelo, sino un nicho altamente estructurado determinado por el hospedero y sus exudados (Peay *et al.*, 2016; Wardle *et al.*, 2004).

## **7.8. Relación funcional entre microbioma ambiental, fermentación y calidad sensorial**

La integración de los resultados sugiere que el microbioma ambiental del cafetal puede influir indirectamente en la fermentación del café, al funcionar como reservorio de microorganismos, participar en la transformación de materia orgánica y aportar grupos funcionales relacionados con la formación de metabolitos de interés sensorial.

Desde esta perspectiva, la fermentación del café puede entenderse como una sucesión microbiana y metabólica. Las levaduras participan en la transformación de azúcares en etanol, alcoholes superiores y ésteres, asociados con notas frutales, dulces y florales (Fu *et al.*, 2024; Pereira *et al.*, 2022). Posteriormente, las bacterias ácido-lácticas contribuyen al balance de acidez mediante la producción de ácido láctico, mientras que las bacterias acéticas pueden aportar complejidad cuando su actividad se mantiene controlada (Avallone *et al.*, 2001; Ruta & Farcasanu, 2021). Sin embargo, fermentaciones prolongadas o mal manejadas pueden favorecer la acumulación de compuestos indeseables, como ácido butírico y micotoxinas (Pothakos *et al.*, 2020; Ran *et al.*, 2025).

Por ello, la calidad del café no depende solo de la presencia de microorganismos benéficos o indeseables, sino del equilibrio entre microbiota, sustrato y condiciones de proceso. En este sentido, géneros como *Saccharomyces*, *Candida*, *Pseudomonas*, *Penicillium*, *Bacillus*, *Alternaria* y *Acinetobacter* podrían participar

directa o indirectamente en la generación de precursores sensoriales (Todhanakasem *et al.*, 2024).

Así, el principal aporte del estudio es mostrar que el microbioma del café de especialidad del Estado de México debe entenderse como una red ecológica integrada, donde suelo, raíz, agua y fruto interactúan y pueden modular la fermentación. Esta visión abre la posibilidad de avanzar hacia fermentaciones más controladas, mediante el monitoreo de matrices ambientales y la selección de microorganismos nativos con potencial funcional.

## VIII. CONCLUSIONES

El sistema cafetalero estudiado presentó comunidades bacterianas y fúngicas taxonómicamente diversas y ecológicamente diferenciadas entre matrices. En particular, el suelo mostró una alta diversidad microbiana, lo que permite reconocerlo como un reservorio relevante dentro del agroecosistema cafetalero. Por su parte, la raíz presentó una composición microbiana diferenciada, consistente con un compartimento sujeto a procesos de selección asociados con la interacción planta-microorganismo.

La identificación de núcleos bacterianos y fúngicos compartidos entre matrices evidencia una conectividad ecológica dentro del sistema cafetalero. La presencia de géneros microbianos en suelo, raíz, fruto y agua sugiere que el microbioma ambiental constituye una fuente importante de microorganismos con capacidad de incorporarse a distintas etapas del manejo del café, incluyendo los procesos postcosecha.

Aunque el presente estudio no evaluó directamente atributos sensoriales, metabolitos volátiles ni fermentaciones controladas, algunos de los géneros identificados han sido reportados en la literatura como participantes en procesos de degradación de materia orgánica, producción enzimática, metabolismo de azúcares y generación de compuestos asociados con la fermentación. En este sentido, los resultados obtenidos aportan una base inicial para comprender la posible relación

entre el microbioma ambiental del cafetal y los procesos que influyen en la calidad y diferenciación del café de especialidad producido en el Estado de México.

En conjunto, esta investigación contribuye al conocimiento del microbioma asociado al cultivo de café bajo condiciones locales y proporciona elementos para futuras investigaciones orientadas a vincular la diversidad microbiana ambiental con procesos de fermentación, perfiles químicos, atributos sensoriales y estrategias de valorización del café de especialidad.

## **IX. SUGERENCIAS**

A partir de los resultados obtenidos, se recomienda que futuras investigaciones amplíen el diseño experimental mediante la incorporación de un mayor número de unidades de muestreo, repeticiones biológicas y sitios de colecta, con el fin de fortalecer la representatividad de los datos y permitir comparaciones más robustas entre matrices, altitudes, variedades de café o condiciones de manejo agronómico. Asimismo, sería conveniente realizar muestreos en diferentes etapas fenológicas del cultivo y en distintos momentos del ciclo productivo, ya que la composición del microbioma puede variar en función del desarrollo de la planta, las condiciones ambientales, la disponibilidad de nutrientes, la humedad del suelo y las prácticas agrícolas aplicadas. Esto permitiría comprender con mayor precisión la dinámica temporal de las comunidades bacterianas y fúngicas asociadas al sistema cafetalero.

Otra mejora importante sería integrar el análisis microbiológico con variables fisicoquímicas del suelo, agua y fruto, tales como pH, humedad, materia orgánica, temperatura, actividad de agua, contenido de azúcares y otros parámetros relacionados con la calidad del café. La inclusión de estas variables permitiría establecer asociaciones más claras entre las condiciones del ambiente, la composición microbiana y su posible influencia en los procesos postcosecha.

También se sugiere complementar la identificación taxonómica con análisis funcionales, ya sea mediante aproximaciones metagenómicas, metabolómicas o pruebas de actividad enzimática. Esto permitiría no solo conocer qué microorganismos están presentes, sino también inferir con mayor precisión qué

funciones metabólicas podrían desempeñar dentro del sistema cafetalero y durante procesos como la fermentación.

En caso de que se busque relacionar el microbioma ambiental con la calidad del café, sería recomendable implementar fermentaciones controladas utilizando frutos provenientes de las matrices estudiadas, así como evaluar parámetros químicos, sensoriales y microbiológicos durante el proceso. De esta manera, sería posible determinar si los microorganismos presentes en suelo, raíz, fruto o agua se incorporan efectivamente a la fermentación y si tienen algún efecto sobre el perfil sensorial del café.

Finalmente, se recomienda aislar y caracterizar microorganismos de interés, particularmente aquellos géneros bacterianos o fúngicos asociados con producción enzimática, metabolismo de azúcares, degradación de mucílago o generación de compuestos aromáticos. Estos aislamientos podrían servir como base para el desarrollo futuro de cultivos iniciadores nativos, orientados a mejorar la consistencia, calidad y diferenciación del café de especialidad del Estado de México.

## X. BIBLIOGRAFÍA

- Alam, K., Mazumder, A., Sikdar, S., Zhao, Y., Hao, J., Song, C., Wang, Y., Sarkar, R., Islam, S., Zhang, Y., & Li, A. (2022). Streptomyces: The biofactory of secondary metabolites. *Frontiers in Microbiology*, 13, 968053. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.968053>
- Arcila, J., Farfán, F., Moreno, A. M., Salazar, L. F., & Hincapié, E. (2007). Sistemas de producción de café en Colombia. Cenicafé.
- Artusi, N. (2021). Manual del café: Guía definitiva para comprar, preparar y tomar. Grupo Planeta.
- Avallone, S., Guyot, B., Brillouet, J. M., Olguin, P., & Guiraud, J. P. (2001). Microbiological and biochemical study of coffee fermentation. *Current Microbiology*, 42(4), 252-256. <https://doi.org/10.1007/s002840110213>
- Ayuntamiento de Temascaltepec. (2022). Plan de Desarrollo Municipal 2022-2024. [https://copladem.edomex.gob.mx/sites/copladem.edomex.gob.mx/files/files/pdf/Planes%20y%20programas/Mpales-2022-2024/Temascaltepec\\_PDM\\_2022\\_2024.pdf](https://copladem.edomex.gob.mx/sites/copladem.edomex.gob.mx/files/files/pdf/Planes%20y%20programas/Mpales-2022-2024/Temascaltepec_PDM_2022_2024.pdf)
- Azhari, A., & Supratman, U. (2021). The Chemistry and Pharmacology of Fungal Genus *Periconia*: A Review. *Scientia Pharmaceutica*, 89(3), 34. <https://doi.org/10.3390/scipharm89030034>
- Bahram, M., Hildebrand, F., Forslund, S. K., Anderson, J. L., Soudzilovskaia, N. A., van Bodegom, P. M., Bengtsson-Palme, J., Anslan, S., Coelho, L. P., Harend, H., Huerta-Cepas, J., Medema, M. H., Maltz, M. R., Mundra, S., Olsson, P. A.,

- Pent, M., Pölme, S., Sunagawa, S., Ryberg, M., Tedersoo, L., & Bork, P. (2018). Structure and function of the global topsoil microbiome. *Nature*, 560(7717), 233–237. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0386-6>
- Benocci, T., Aguilar-Pontes, M., Zhou, M., Seiboth, B., & Vries, R. (2017). MOESM5 of Regulators of plant biomass degradation in ascomycetous fungi. Figshare. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.5104078.v1>
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8), 478–486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Blanco-Míguez, A., Beghini, F., Cumbo, F., McIver, L. J., Thompson, K. N., Zolfo, M., Manghi, P., Dubois, L., Huang, K. D., Thomas, A. M., Nickols, W. A., Piccinno, G., Piperni, E., Punčochář, M., Valles-Colomer, M., Tett, A., Giordano, F., Davies, R., Wolf, J., . . . Segata, N. (2023). Extending and improving metagenomic taxonomic profiling with uncharacterized species using MetaPhlAn 4. *Nature Biotechnology*, 41(11), 1633-1644. <https://doi.org/10.1038/s41587-023-01688-w>
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., ... Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, 37(8), 852-857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>

- Braga, A. V. U., Miranda, M. A., Aoyama, H., & Schmidt, F. L. (2023). Study on coffee quality improvement by self-induced anaerobic fermentation: Microbial diversity and enzymatic activity. *Food Research International*, 165, 112528. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112528>
- Bressani, A. P. P., Martinez, S. J., Batista, N. N., Simão, J. B. P., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2021). Co-inoculation of yeast starters: A strategy to improve quality of low-altitude Arabica coffee. *Food Chemistry*, 361, 130133. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130133>
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., van Themaat, E. V. L., & Schulze-Lefert, P. (2013). Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 64, 807–838. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120106>
- Caamal-Chan, M. G., Barraza, A., & Loera-Muro, A. (2022). El mundo de las comunidades microbianas de las plantas y la aplicación de las nuevas herramientas de secuenciación de ADN para su estudio. *Recursos Naturales y Sociedad*, 8(1), 71-90. <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2022.08.08.01.0005>
- Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. (2019). Comercio internacional del café: El caso de México. Cámara de Diputados.

- Centro Nacional de Investigaciones de Café. (2013). Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/345>
- Chukwuma, O. B., Rafatullah, M., Tajarudin, H. A., & Ismail, N. (2020). Lignocellulolytic Enzymes in Biotechnological and Industrial Processes: A Review. *Sustainability*, 12(18), 7282. <https://doi.org/10.3390/su12187282>
- Collazos-Chaves, E. F., Hidalgo-Troya, A., & Hurtado-Gutiérrez, N. H. (2025). Microorganisms involved in the fermentation process of specialty coffees in Southwestern Colombia identified as potential starter cultures. *Revista Argentina de Microbiología*. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2025.09.009>
- Córdoba-Castro, N. C., & Guerrero-Fajardo, J. F. (2016). Caracterización de los procesos tradicionales de fermentación de café en el departamento de Nariño. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 75-83.
- Cortés-López, N. G., Ordóñez-Baquera, P. L., & Domínguez-Viveros, J. (2020). Herramientas moleculares utilizadas para el análisis metagenómico. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11(4), 1150-1173. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i4.5202>
- Delmotte, N., Knief, C., Chaffron, S., Innerebner, G., Roschitzki, B., Schlapbach, R., von Mering, C., & Vorholt, J. A. (2009). Community proteogenomics reveals insights into the physiology of phyllosphere bacteria. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences, 106(38), 16428–16433.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0905240106>

Didier, T. N. (2018). Experiencias campesinas en cafecultura orgánica. Universidad Autónoma Chapingo, Huatusco, Ver. México. Centro Nacional de Investigación, Innovación y Desarrollo Tecnológico del Café. CENACAFE. 104 p.

Duran, R. F. (2010). Cultivo del café. Grupo Latino Editores.

Elhalis, H., Cox, J., & Zhao, J. (2022). Coffee fermentation: Expedition from traditional to controlled process and perspectives for industrialization. *Applied Food Research*, 3(1), 100253. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100253>

Engel, P., & Moran, N. A. (2013). The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 699–735. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12025>

Escamilla Prado, E., & Landeros Sánchez, C. (2016). Cafés diferenciados y de especialidad. Centro Nacional de Investigación, Innovación y Desarrollo Tecnológico del Café.

Fierer, N., & Jackson, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(3), 626–631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>

Flórez, C. P., Ibarra Ruales, L. N., Gómez Gil, L. F., Carmona González, C. Y., Castaño Marín, Á., & Ortiz, A. (2013). Estructura y funcionamiento de la planta de café. En Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Manual

del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura (Vol. 1, pp. 123–168). Cenicafé. [https://doi.org/10.38141/cenbook-0026\\_08](https://doi.org/10.38141/cenbook-0026_08)

Fu, X., Li, G., Li, Y., Li, Y., Bi, X., Huang, J., Yang, Y., Yu, H., Liu, D., Hu, F., & Dong, W. (2024). Fermentation with coffee berry peels induces spatiotemporal changes in microbial communities leading to unique aroma of coffee berries. *International Journal of Food Properties*, 27(1), 657-673. <https://doi.org/10.1080/10942912.2024.2339235>

Gaona Ulaje, G., Martínez-De la Cruz, I., Mariezcurrena Berasain, M. D., Rubí Arriaga, M., & Nava Villena, A. (2024). Effect of physical characteristics of coffee grain (*Coffea arabica* L.) cultivated in Temascaltepec, State of Mexico, on the roasting process. *Food Science and Technology*, 44, e00246. <https://doi.org/10.5327/fst.00246>

Ge, Z., Zhai, Z., Xie, W., Dai, J., Huang, K., Johnson, D. R., Zhao, F., & Wang, P. (2023). Two-tiered mutualism improves survival and competitiveness of cross-feeding soil bacteria. *The ISME Journal*, 17(11), 2090-2102. <https://doi.org/10.1038/s41396-023-01519-5>

Hakim, S., Naqqash, T., Nawaz, M. S., Laraib, I., Siddique, M. J., Zia, R., Mirza, M. S., & Imran, A. (2021). Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.617157>

- Herrera, J. C., & Cortina, H. A. (2013). Taxonomía y clasificación del café. En Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Manual del cafetero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura (Vol. 1, pp. 117–121). Cenicafé. [https://doi.org/10.38141/cenbook-0026\\_07](https://doi.org/10.38141/cenbook-0026_07)
- Holguín-Sterling, L., Pedraza-Claros, B., Pérez-Salinas, R., Ortiz, A., Navarro-Escalante, L., & Góngora, C. E. (2023). Physical–Chemical and Metataxonomic Characterization of the Microbial Communities Present during the Fermentation of Three Varieties of Coffee from Colombia and Their Sensory Qualities. *Agriculture*, 13(10), 1980. <https://doi.org/10.3390/agriculture13101980>
- Hopwood, D. A. (2007). Streptomyces in Nature and Medicine: The Antibiotic Makers. *Journal of The History Of Medicine And Allied Sciences*, 63(2), 273-274. <https://doi.org/10.1093/jhmas/jrn016>
- Houbraken, J., & Samson, R. (2011). Phylogeny of Penicillium and the segregation of Trichocomaceae into three families. *Studies in Mycology*, 70(1), 1-51. <https://doi.org/10.3114/sim.2011.70.01>
- Huang, Y., Busk, P. K., & Lange, L. (2015). Cellulose and hemicellulose-degrading enzymes in *Fusarium commune* transcriptome and functional characterization of three identified xylanases. *Enzyme And Microbial Technology*, 73-74, 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2015.03.001>
- Jovel, J., Patterson, J., Wang, W., Hotte, N., O’Keefe, S., Mitchel, T., Perry, T., Kao, D., Mason, A. L., Madsen, K. L., & Wong, G. K. (2016). Characterization of

the Gut Microbiome Using 16S or Shotgun Metagenomics. *Frontiers in Microbiology*, 7, 459. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00459>

Leguizamo, G., Ramírez J.F., Salgado, M. L., Partida, J. G. y Rubí, M. (2023). Tipificación de la cafecultura en Temascaltepec, Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 14(6), e3299. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i6.3299>.

Letizia, M., Diggle, S. P., & Whiteley, M. (2025). *Pseudomonas aeruginosa*: ecology, evolution, pathogenesis and antimicrobial susceptibility. *Nature Reviews Microbiology*, 23(11), 701-717. <https://doi.org/10.1038/s41579-025-01193-8>

Li, F., Jin, Z., Wang, Z., Liao, Y., Yu, L., & Li, X. (2022). Host Plant Selection Imprints Structure and Assembly of Fungal Community along the Soil-Root Continuum. *mSystems*, 7(4), e0036122. <https://doi.org/10.1128/msystems.00361-22>

Lundberg, D. S., Lebeis, S. L., Paredes, S. H., Yourstone, S., Gehring, J., Malfatti, S., Tremblay, J., Engelbrektson, A., Kunin, V., Del Rio, T. G., Edgar, R. C., Eickhorst, T., Ley, R. E., Hugenholtz, P., Tringe, S. G., & Dangl, J. L. (2012). Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. *Nature*, 488(7409), 86–90. <https://doi.org/10.1038/nature11237>

Lv, S., Li, Y., Zhao, S., & Shao, Z. (2024). Biodegradation of Typical Plastics: From Microbial Diversity to Metabolic Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(1), 593. <https://doi.org/10.3390/ijms25010593>

- Ma, H., Zhang, B., Gai, Y., Sun, X., Chung, K., & Li, H. (2019). Cell-Wall-Degrading Enzymes Required for Virulence in the Host Selective Toxin-Producing Necrotroph *Alternaria alternata* of Citrus. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2514. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02514>
- Ma, Y., Wang, J., Liu, Y., Wang, X., Zhang, B., Zhang, W., Chen, T., Liu, G., Xue, L., & Cui, X. (2023). Nocardioideos: "especialistas" en contaminantes difíciles de degradar en el medio ambiente. *Molecules*, 28(21), 7433. <https://doi.org/10.3390/molecules28217433>
- Mahatmanto, T., Sunarharum, W. B., Putri, F. A., Susanto, C. A., Davian, A. O., & Murdiyatmo, U. (2023). The microbiology of arabica and robusta coffee cherries: a comparative study of indigenous bacteria with presumptive impact on coffee quality. *FEMS Microbiology Letters*, 370. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnad024>
- Martínez-Muñoz, D. S., Rivera-Cerón, F., Palacios-Solórzano, I., Ramírez-Martínez, B. A., Molina-Aguilar, C., & Moguel, B. B. (2022). Metagenómica y metatranscriptómica para mitigar las emisiones de metano por animales rumiantes. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 25. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.430>
- Mehrani, M., Sobotka, D., Kowal, P., Ciesielski, S., & Makinia, J. (2020). The occurrence and role of *Nitrospira* in nitrogen removal systems. *Bioresource Technology*, 303, 122936. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122936>

- Mendoza, M. (2005). Importancia de la identificación de levaduras. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25(1), 103-117. <https://www.redalyc.org/pdf/1994/199416547004.pdf>
- Mock, M. B., & Summers, R. M. (2024). Microbial metabolism of caffeine and potential applications in bioremediation. *Journal of Applied Microbiology*, 135(4). <https://doi.org/10.1093/jambio/lxae080>
- Mousavi, S. A., Österman, J., Wahlberg, N., Nesme, X., Lavire, C., Vial, L., Paulin, L., De Lajudie, P., & Lindström, K. (2014). Phylogeny of the Rhizobium–Allorhizobium–Agrobacterium clade supports the delineation of Neorhizobium gen. nov. *Systematic And Applied Microbiology*, 37(3), 208-215. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2013.12.007>
- Navas-Molina, J. A., Peralta-Sánchez, J. M., González, A., McMurdie, P. J., Vázquez-Baeza, Y., Xu, Z., Ursell, L. K., Lauber, C., Zhou, H., Song, S. J., Huntley, J., Ackermann, G. L., Berg-Lyons, D., Holmes, S., Caporaso, J. G., & Knight, R. (2013). Advancing Our Understanding of the Human Microbiome Using QIIME. *Methods In Enzymology On CD-ROM/Methods In Enzymology*, 531, 371-444. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-407863-5.00019-8>
- Nigam, P. & Singh, A. (2014). Cocoa and Coffee Fermentations. En Elsevier eBooks (pp. 485-492). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00074-4>
- Nikitin, D. I., Strömpl, C., Oranskaya, M. S., & Abraham, W. (2004). Phylogeny of the ring-forming bacterium *Arcicella aquatica* gen. nov., sp. nov. (ex Nikitin et al. 1994), from a freshwater neuston biofilm. *International Journal of Systematic*

and Evolutionary Microbiology, 54(3), 681-684.

<https://doi.org/10.1099/ijs.0.02896-0>

Pandolfo, E., Durán-Wendt, D. & Martínez-Cuesta, R. (2024). Análisis metagenómicos de un consorcio para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. *AMB Expr* 14, 105. <https://doi.org/10.1186/s13568-024-01764-7>

Peay, K. G., Kennedy, P. G., & Talbot, J. M. (2016). Dimensions of biodiversity in the Earth mycobiome. *Nature Reviews Microbiology*, 14(7), 434-447. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.59>

Peñaranda, L. S., Pinilla, J. C. H., & Zornosa, J. R. A. (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>

Peñuela-Martínez, A. E., Velasquez-Emiliani, A. V., & Angel, C. A. (2023). *Microbial diversity using a metataxonomic approach, associated with coffee fermentation processes in the Department of Quindío, Colombia*. *Fermentation*, 9(4), 343. <https://doi.org/10.3390/fermentation9040343>

Peraza-Jiménez, K., De la Rosa-García, S., Huijara-Vasconcelos, J. J., Reyes-Estebanez, M., & Gómez-Cornelio, S. (2021). Enzymatic Bioprospecting of Fungi Isolated from a Tropical Rainforest in Mexico. *Journal of Fungi*, 8(1), 22. <https://doi.org/10.3390/jof8010022>

Pereira, T. S., Batista, N. N., Pimenta, L. P. S., Martinez, S. J., Ribeiro, L. S., Naves, J. A. O., & Schwan, R. F. (2022). Self-induced anaerobiosis coffee

fermentation: Impact on microbial communities, chemical composition and sensory quality of coffee. *Food Microbiology*, 103, 103962. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103962>

Pothakos, V., De Vuyst, L., Zhang, S. J., De Bruyn, F., Verce, M., Torres, J., Callanan, M., Moccand, C., & Weckx, S. (2020). Temporal shotgun metagenomics of an Ecuadorian coffee fermentation process highlights the predominance of lactic acid bacteria. *Current Research In Biotechnology*, 2, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2020.02.001>

Puerta, G. I., Rendón, J. R., & Echeverry-Molina, G. (2015). Fermentación controlada del café: tecnología para agregar valor a la calidad. *Avances Técnicos Cenicafé*, 454, 1-12. <https://doi.org/10.38141/10779/0454>

Rabha, J., & Jha, D. K. (2017). Metabolic Diversity of *Penicillium*. En Elsevier eBooks (pp. 217-234). <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63501-3.00012-0>

Ramírez-Flores, E. (2009). Coliformes y amibas de vida libre presentes en agua subterránea. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 5(2), 98-105. <http://revista.itson.edu.mx/index.php/rlrn/article/download/158/92>

Ran, L.-X., Wei, X.-Y., Ren, E.-F., Qin, J.-F., Rasheed, U., & Chen, G.-L. (2025). Application of microbial fermentation in caffeine degradation and flavor modulation of coffee beans. *Foods*, 14(15), 2606. <https://doi.org/10.3390/foods14152606>

Reséndez, A. M., Mendoza, V. G., Carrillo, J. L. R., Arroyo, J. V., & Ríos, P. C. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de

biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), 68-83.  
<https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707>

Rocha, H. A., Borém, F. M., Alves, A. P. C., Santos, C. M. D., Schwan, R. F., Haeblerlin, L., Nakajima, M., & Sugino, R. (2023). Natural fermentation with delayed inoculation of the yeast *Torulasporea delbrueckii*: Impact on the chemical composition and sensory profile of natural coffee. *Food Research International*, 174, 113632. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113632>

Rodríguez-Sahagún, A., Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O., Acevedo-Hernández, G., & Aarland, R. C. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 333-345. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>

Romero, J. M., & Camilo, J. (2019). *Manual de producción sostenible de café en la República Dominicana*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.  
<https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/8726/BVE20037756e.pdf>

Rosabal Ayan, L., Macías Coutiño, P., Maza González, M., López Vázquez, R., & Guevara Hernández, F. (2021). Microorganismos del suelo y sus usos potenciales en la agricultura frente al escenario del cambio climático. *Magna Scientia UCEVA*, 1(1), 103–116. <https://doi.org/10.54502/msuceva.v1n1a14>

Rubio, S., Pacheco-Orozco, R. A., Gómez, A. M., Perdomo, S., & García-Robles, R. (2020). Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN: presente y futuro

en la práctica clínica. *Universitas Médica*, 61(2).  
<https://doi.org/10.11144/javeriana.umed61-2.sngs>

Rubio-Noguez, D., Breton-Deval, L. & Salinas-Peralta, I. (2024). La presión de contaminación impulsa conjuntos microbianos que mejoran el potencial de fitorremediación de metales pesados por *Ricinus communis*. *World J Microbiol Biotechnol* 40, 241. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-04025-8>

Ruíz-Leza, H. A., Rodríguez-Jasso, R. M., Rodríguez-Herrera, R., Contreras-Esquivel, J. C., & Aguilar, C. N. (2007). Diseño de biorreactores para fermentación en medio sólido. *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, 6(1), 33-40. <https://www.redalyc.org/pdf/620/62060105.pdf>

Ruta, L. L., & Farcasanu, I. C. (2021). Coffee and Yeasts: From Flavor to Biotechnology. *Fermentation*, 7(1), 9.  
<https://doi.org/10.3390/fermentation7010009>

Sala-Comorera, L., Caudet-Segarra, L., Galofré, B., Lucena, F., Blanch, A. R., & García-Aljaro, C. (2020). Unravelling the composition of tap and mineral water microbiota: Divergences between next-generation sequencing techniques and culture-based methods. *International Journal of Food Microbiology*, 334, 108850. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108850>

Sarmiento, C. S. A., Lemos, O. L., Boffo, E. F., Matsumoto, S. N., De Castro, I. T. P., & Alvarenga, Y. A. (2025). Relations between sensory quality and spectral indices in brazilian arabica coffees. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 97(1). <https://doi.org/10.1590/0001-3765202520240921>

- Secretaría de Salud. (1995). Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994, Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Diario Oficial de la Federación.
- Shade, A., Peter, H., Allison, S. D., Baho, D. L., Berga, M., Bürgmann, H., Huber, D. H., Langenheder, S., Lennon, J. T., Martiny, J. B. H., Matulich, K. L., Schmidt, T. M., & Handelsman, J. (2012). Fundamentals of microbial community resistance and resilience. *Frontiers in Microbiology*, 3, 417. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00417>
- Shen, X., Wang, Q., Wang, H., Fang, G., Li, Y., Zhang, J., & Liu, K. (2024). Microbial Characteristics and Functions in Coffee Fermentation: A Review. *Fermentation*, 11(1), 5. <https://doi.org/10.3390/fermentation11010005>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2022). Cultivo de café en México. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/cultivo-de-cafe-en-mexico>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2024). Escenario mensual de productos agroalimentarios: Café cereza. Dirección de Análisis Estratégico. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/938476/Caf\\_\\_Julio.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/938476/Caf__Julio.pdf)
- Silva, C. F., Schwan, R. F., Dias, E. S., & Wheals, A. E. (2000). Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 60(2-3), 251-260. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(00\)00315-9](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(00)00315-9)

- Sun, Z., Li, S., Ren, Q., Xu, J., Lu, X., & Sun, M. (2020). Biology and applications of *Clonostachys rosea*. *Journal of Applied Microbiology*, 129(3), 486-495. <https://doi.org/10.1111/jam.14625>
- Szűcs, Z., Plaszkó, T., Cziáky, Z., Kiss-Szikszai, A., Emri, T., Bertóti, R., Sinka, L. T., Vasas, G., & Gonda, S. (2018). Endophytic fungi from the roots of horseradish (*Armoracia rusticana*) and their interactions with the defensive metabolites of the glucosinolate - myrosinase - isothiocyanate system. *BMC Plant Biology*, 18(1), 85. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1295-4>
- Tanya Morocho, M., & Leiva-Mora, M. (2019). Microorganismos eficientes: propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. *Centro Agrícola*, 46(2), 93–103. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-57852019000200093&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852019000200093&lng=es&tlng=es)
- Todhanakasem, T., Van Tai, N., Pornpukdeewattana, S., Charoenrat, T., Young, B. M., & Wattanachaisaereekul, S. (2024). Relationship between microbial communities in coffee fermentation and aroma with metabolite attributes in finished products. *Foods*, 13(15), 2332. <https://doi.org/10.3390/foods13152332>
- Toju, H., Peay, K. G., Yamamichi, M., Narisawa, K., Hiruma, K., Naito, K., Fukuda, S., Ushio, M., Nakaoka, S., Onoda, Y., Yoshida, K., Schlaeppli, K., Bai, Y., Sugiura, R., Ichihashi, Y., Minamisawa, K., & Kiers, E. T. (2018). Core microbiomes for sustainable agroecosystems. *Nature Plants*, 4, 247–257. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0139-4>

- Truong, D. T., Franzosa, E. A., Tickle, T. L., Scholz, M., Weingart, G., Pasolli, E., Tett, A., Huttenhower, C., & Segata, N. (2015). MetaPhlan2 for enhanced metagenomic taxonomic profiling. *Nature Methods*, 12(10), 902-903. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3589>
- Uhlen, M., & Quake, S. R. (2023). Sequential sequencing by synthesis and the next-generation sequencing revolution. *Trends in Biotechnology*, 41(12), 1565-1572. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2023.06.007>
- Unigarro, C. A., Cayón Salinas, D. G., León-Burgos, A. F., & Flórez-Ramos, C. P. (2025). Flowering and fruiting of *Coffea arabica* L.: A comprehensive perspective from phenology. *Plants*, 14(21), 3396. <https://doi.org/10.3390/plants14213396>
- Vandenkoornhuysse, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A., & Dufresne, A. (2015). The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist*, 206(4), 1196–1206. <https://doi.org/10.1111/nph.13312>
- Vargha, M., Róka, E., Erdélyi, N., Németh, K., Nagy-Kovács, Z., Kós, P. B., & Engloner, A. I. (2023). From Source to Tap: Tracking Microbial Diversity in a Riverbank Filtration-Based Drinking Water Supply System under Changing Hydrological Regimes. *Diversity*, 15(5), 621. <https://doi.org/10.3390/d15050621>
- Veloso, T. G. R., De Cássia Soares Da Silva, M., Cardoso, W. S., Guarçoni, R. C., Kasuya, M. C. M., & Pereira, L. L. (2020). Effects of environmental factors on

microbiota of fruits and soil of *Coffea arabica* in Brazil. *Scientific Reports*, 10(1), 14692. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71309-y>

Veloso, T. G. R., De Cássia Soares Da Silva, M., Moreira, T. R., Da Luz, J. M. R., Moreli, A. P., Kasuya, M. C. M., & Pereira, L. L. (2023). Microbiomes associated with *Coffea arabica* and *Coffea canephora* in four different floristic domains of Brazil. *Scientific Reports*, 13(1), 18477. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45465-w>

Wardle, D. A., Bardgett, R. D., Klironomos, J. N., Setälä, H., van der Putten, W. H., & Wall, D. H. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304(5677), 1629–1633. <https://doi.org/10.1126/science.1094875>

Wensel, C. R., Pluznick, J. L., Salzberg, S. L., & Sears, C. L. (2022). Next-generation sequencing: insights to advance clinical investigations of the microbiome. *Journal of Clinical Investigation*, 132(7). <https://doi.org/10.1172/jci154944>

Whatmough, B., Holmes, N. A., Wilkinson, B., Hutchings, M. I., Parra, J., & Duncan, K. R. (2024). Microbe Profile: *Pseudonocardia*: antibiotics for every niche. *Microbiology*, 170(9). <https://doi.org/10.1099/mic.0.001501>

Wood, D. E., Lu, J., & Langmead, B. (2019). *Improved metagenomic analysis with Kraken 2*. *Genome Biology*, 20(1), 257. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1891-0>

Zhang, K., Sandoval-Denis, M., Kandemir, H., Yilmaz, N., Groenewald, J., De J Yáñez-Morales, M., Wingfield, M., & Crous, P. (2025). Taxonomic revision of

Bisifusarium (Nectriaceae). *Persoonia - Molecular Phylogeny And Evolution Of Fungi*, 54(1), 197-223. <https://doi.org/10.3114/persoonia.2025.54.06>

Zhang, L., Chen, F., Zeng, Z., Xu, M., Sun, F., Yang, L., Bi, X., Lin, Y., Gao, Y., Hao, H., Yi, W., Li, M., & Xie, Y. (2021). Advances in Metagenomics and Its Application in Environmental Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 12, 766364. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.766364>

Zhang, S. J., De Bruyn, F., Pothakos, V., Torres, J., Falconi, C., Moccand, C., Weckx, S., & De Vuyst, L. (2019). Following Coffee Production from Cherries to Cup: Microbiological and Metabolomic Analysis of Wet Processing of *Coffea arabica*. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(6). <https://doi.org/10.1128/aem.02635-18>

Zhao, B., Liu, R., Guo, Q., Xu, G., Zhang, L., Sun, P., Cao, Y., & Hu, S. (2023). The use of newly isolated fungal cultures for the selective delignification of bamboo culms. *Frontiers in Bioengineering And Biotechnology*, 11, 1265420. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1265420>