

# Efecto de Microorganismos Rizosféricos sobre Germinación y Crecimiento Temprano de *Anacardium Excelsum*

DAYANT BARRETO\*, NELSON VALERO, ADRIANA MUÑOZ, ARNALDO PERALTA

UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR (COLOMBIA)

\*Email: dayanthb@hotmail.com, barretogomez@hotmail.com

## RESUMEN

Desde hace décadas, se han desarrollado numerosos estudios para incorporar las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento vegetal (RPVC) en la producción agrícola. No obstante existe poca información sobre estudios de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal en especies forestales, especialmente del bosque seco tropical. El presente trabajo se enfocó en aislar y evaluar el efecto de la inoculación de biopreparados con base en RPCV exclusivos de *Anacardium excelsum*, una especie arbórea nativa de bosques secos de Centro y Suramérica, presente en una reserva forestal localizada en las estribaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta (Colombia). Inicialmente se aislaron 8 morfotipos microbianos rizosféricos en agar suelo, seleccionando microorganismos exclusivos en esta especie arbórea: *Pseudomonas fluorescens*, *putida* y *Bacillus licheniformis*, estas fueron aplicadas para conocer el efecto en la germinación de semillas y crecimiento de las plántulas. Los resultados obtenidos en relación al porcentaje de germinación muestran que los biopreparados a base de estas bacterias nativas promovieron eficazmente el crecimiento de semillas, el efecto promotor fue superior al tratamiento control; en cuanto al ensayo de estimulación del crecimiento las bacterias, presentaron óptimos resultados en la aceleración del crecimiento. Lo que sugiere la potencialidad de estos en procesos de reforestación.

Palabras clave: Bosque seco tropical, especies forestales, rizobacterias PGPR.

## ABSTRACT

*Rizospheric microorganisms' effect on Anacardium Excelsum's germination and early growth. For decades, several studies have been developed to incorporate the Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) in the agricultural and forest production. Nevertheless very few information exists for the native arboreal species of the dry tropical forest. This investigation focused on evaluating the effect of the inoculation of bioprepared based on exclusive PGPR of Anacardium excelsum's, a native arboreal species of the Central and South American dry forests. The work was developed in the reserve in the foothills of the Sierra Nevada de Santa Marta (Colombia). Initially, 8 types of morphotypes microbial of the Anacardium excelsum's rhizosphere were isolated in ground agar. Then, the exclusive microorganisms present in the arboreal species: Pseudomonas*

*fluorecens, Pseudomonas putida, and Bacillus licheniformis* were selected. These were sowed in nutritive agar with forest ground extract to elaborate inoculums at a 10<sup>6</sup> cells/ml concentration which were applied to know the effect on the seed germination and seedlings growth. The results obtained in relation to the germination percentage show that the biorepared based on these native bacteria effectively promoted the *Caracoli* seedlings growth, and its promoter effect was superior to the control treatment; being the *Bacillus licheniformis* with a 70% of the seeds germinated in 12 days, the one which presented the best effect, referring to the growth stimulation practice of the three isolated bacteria, separately they present optimum results in the *Anacardium excelsum*'s growth acceleration, without finding significant differences in these three treatments, which suggests that the rhizosphere inoculators microbial are potentially useful on the speeding up of this specie's restoration processes, since they allowed a faster establishment. On the other hand, the cultivation environment also contributes with a series of nutrients useful in the *Anacardium excelsum*'s development and healthy growth.

*Key words: dry tropical forest, forest species, Rhizobacterias.*

Las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento vegetal RPCV, son bacterias de vida libre presentes en el suelo, capaces de adaptarse, colonizar y persistir en la rizósfera de las plantas afectando (Negativa o positivamente) o no su crecimiento (Glick, Patten, Holguin y Penrose 1999). Entendiendo la reforestación como “el establecimiento de vegetación arbórea en terrenos con aptitud forestal” (Elster C. 2000). La reforestación consiste en plantar árboles donde ya no existen o quedan pocos, así como su cuidado para que se desarrollen adecuadamente. Con frecuencia las plantas introducidas en procesos de reforestación presentan difícil adaptación e inconvenientes para un crecimiento adecuado. Se puede decir que en los suelos deforestados no se encuentran los microorganismos que establecen asociaciones benéficas con los árboles, o las poblaciones están muy disminuidas, por que ellos necesitan de la planta asociada y sus exudados radiculares para proliferar, como consecuencia al realizar la reforestación tradicional se plantan árboles sin los microorganismos que pueden ayudar a su desarrollo y mejor adaptación al suelo. Por lo anterior, una de las vías que se puede emplear para contribuir a la reforestación y lograr mejorar el proceso de establecimiento vegetal en suelos deteriorados consiste en incrementar la población de microorganismos asociados a la rizósfera, los cuales ayudan a la nutrición y desarrollo vegetal; con este trabajo se propuso, una forma de enriquecer la población microbiana en suelos en proceso de reforestación, mediante la siembra de plantas inoculadas en vivero, que lleven en la rizósfera altas poblaciones microbianas benéficas, de esta forma la planta actúa como medio para reintroducir estos microorganismos al suelo y además al sembrarlas con microflora benéfica asociada se incrementa su crecimiento temprano y se mitiga el estrés, desencadenado en un mejor proceso de adaptación al suelo, en relación a plantas no inoculadas en vivero.

Con este trabajo se pretende contribuir al proceso de reforestación en áreas degradadas del Eco-parque los Besotes (bosque seco tropical) en el municipio de Valledupar, Cesar. El Eco-parque los Besotes es una reserva natural donde se trabaja para conservar y restaurar el

bosque nativo amenazado por las actividades humanas. En la actualidad el 92% del área del parque está dedicado a la conservación, (BirdLife Internacional, 2006) pero existen algunas zonas donde es necesario inducir procesos de vegetalización y restauración.

El trabajo tuvo como propósito el aislamiento de microorganismos propios de la rizósfera de *Anacardium excelsum* presentes en áreas bien conservadas, se seleccionaron los microorganismos más representativos esta especie y se utilizaron para diseñar inóculos microbianos con los cuales se realizaron pruebas de germinación y estimulación del crecimiento vegetal. Los resultados aportan información básica para la inclusión de técnicas de biofertilización en la propagación de material vegetal en vivero con fines de reforestación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Aislamiento e identificación de rizobacterias nativas en la especie forestal *Anacardium excelsum*.

Se recolectaron muestras de suelo de áreas desprovistas de vegetación boscosa y de suelos con crecimiento del Caracolí, para comparar los microorganismos presentes en estos dos suelos. El muestreo se realizó eligiendo un árbol en buen estado fitosanitario, alrededor del cual se ubicaron cinco puntos de muestreo. En cada uno se tomó una muestra de suelo rizosférico entre 10 – 30cm de profundidad, cada una con 50g, para conformar una muestra integrada de 250g, que se depositaron en bolsas plásticas estéril *sellopack*, se refrigeraron y transportaron hacia el laboratorio de microbiología de la Universidad Popular del Cesar.

### 2. Preparación del Medio de Cultivo

Para el procesamiento de las muestras se preparó un medio de cultivo “agar extracto de suelo” el cual fue estandarizado y utilizado para la obtención y mantenimiento de microorganismos a partir de todas las muestras de suelo. En el Cuadro 1 se aprecian los componentes utilizados en la preparación de este.

### 3. Procesamiento de Muestras

A partir de las muestras de suelo se realizaron diluciones seriadas de  $10^2 - 10^6$  y se inoculó 0.1ml en cajas de petri con agar extracto de suelo preparado previamente. Posteriormente, se incubaron a 37°C por 24 horas, para la obtención de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV). Se compararon las cepas obtenidas de suelo rizosférico con las cepas de suelo carente de árboles y se descartaron las que presentaron similitud macroscópica y en la tinción de Gram con las bacterias aisladas en los suelos boscosos. Seleccionando tres morfotipos diferentes, el parámetro a tener en cuenta para la selección de cepas fue abundancia en cuanto al crecimiento y predominancia de los morfotipos, las cepas fueron preservadas a -20°C para posteriores ensayos.

### 4. Pruebas de identificación a los morfotipos seleccionados

Se realizaron pruebas bioquímicas de identificación para los microorganismos seleccionados,

(Cuadro 2) posteriormente se realizó una prueba de antagonismo por la técnica de enfrentamiento en agar nutritivo. Esta prueba se llevó a cabo modificando la metodología de Acevedo, (Acevedo 1992) y de Earnshaw y Boland, (Earnshaw y Boland 1997) que consiste en colocar en los extremos de la caja de petri con agar nutritivo, discos de agar con los microorganismos aislados previamente realizando las combinaciones respectivas de manera que se logró enfrentar el mismo aislamiento y realizar enfrentamientos con aislamientos diferentes, esto con el fin de comprobar si alguno de los microorganismos seleccionados inhibía el crecimiento de otros. Se utilizaron dos cajas de petri por enfrentamiento para los morfotipos seleccionados.

### 5. Obtención de los biopreparados bacterianos

Se realizó un medio de cultivo con extracto de suelo autóctono, más extracto de levadura y glucosa, con el fin de semejar las condiciones del ambiente natural de crecimiento de las bacterias rizosféricas. En este medio se sembraron las diferentes cepas microbianas con el fin de obtener un inóculo concentrado por medio de fermentación en Batch; finalmente se realizó un recuento celular en cámara de Neubauer de las suspensiones microbianas hasta obtener una concentración celular estandarizada de  $10^6$  células/ml, para cada microorganismo.

Para realizar el ensayo de promoción de crecimiento vegetal se tomaron 500 ml del fermentado obtenido de cada bacteria, se envasaron asépticamente en recipientes de vidrio color ámbar, herméticamente sellados y se mantuvieron en condiciones de refrigeración hasta el momento de su aplicación. (Modificado a partir de Glick *et al.* 1999).

### 6. Ensayos de promoción de crecimiento vegetal: Efecto de los biopreparados sobre la germinación de *Anacardium excelsum*

Obtención y preparación de semillas: Las semillas de *Anacardium excelsum* fueron recolectadas alrededor del suelo de los árboles de Caracolí y entre la hojarasca del eco-parque, teniendo en cuenta que se encontraran en buen estado, y presentaran características similares como el color tamaño y maduración, inicialmente se lavaron con agua corriente por espacio de una hora para así eliminar residuos presentes, luego un lavado con hipoclorito de sodio al 3% por un minuto, finalmente se lavó con abundante agua 3 veces consecutivas.

Preparación del suelo: El suelo utilizado para sembrar las semillas se filtró por un tamiz de 2 mm de diámetro entre cada poro con el fin de obtener un suelo lo más homogéneo posible, y se sometió a un proceso de solarizado el cual consistió en exponerlo 48 horas a la luz solar y de esta manera esterilizarlo para eliminar posibles bacterias y hongos fitopatógenos que pudieran interferir en la germinación y desarrollo de las semillas, controlando así las posibles variables.

Montaje del ensayo de germinación y estimulación del crecimiento vegetal: El ensayo experimental de germinación de las semillas estuvo constituido por cinco tratamientos, y el ensayo de estimulación del crecimiento por seis. Para cada tratamiento se tomó una bandeja y en cada una de ellas se depositó una capa del suelo solarizado de 3cm de espesor parcialmente húmedo, donde se sembraron 50 semillas de *Anacardium excelsum* (teniendo

en cuenta que estas presentaran similares características tamaño, color y maduración) a dos centímetros de distancia cada una. Luego se agregaron 50ml de cada biopreparado por tratamiento (tt1, tt2, tt3, tt4, testigo). (Ver especificaciones en el cuadro 3). Veinte minutos después se agregó otra capa de suelo la cual cubrió todas las semillas. Las bandejas ya sembradas e inoculadas, se colocaron en un sitio con poca luz y se regaron sin saturar el suelo, observándose las bandejas, con el fin de evidenciar las semillas germinadas cada día por tratamiento.

Una vez iniciada la germinación se prosiguió con el ensayo de estimulación del crecimiento vegetal, realizando mediciones los días 27, 53 y 70 considerando las siguientes variables: Longitud del tallo, numero de hojas, Longitud de raíz, número de raíces secundarias, biomasa de follaje y biomasa de raíz.

Los resultados para cada una de las variables fueron sometidos a un análisis de varianza ANOVA a una vía, obedeciendo un diseño completamente aleatorizado con cinco repeticiones por tratamiento, a un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ .

Posterior al análisis de varianza se realizó la prueba de comparación de promedios HSD – Tuckey con alfa  $\alpha = 0.05$  para ver la significancia de las diferencias presentadas entre los diferentes tratamientos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró estandarizar un medio de cultivo “agar extracto de suelo” el cual cuenta solo con los nutrientes aportados por el suelo rizosférico y la raíz, logrando así el crecimiento de las bacterias que resisten este bajo aporte de nutrientes, pues como se dijo anteriormente no se enriquece con productos comerciales, esto brinda mayor certeza, ya que en este medio no crecerán microorganismos que no presenten como una de sus características sobrevivir cuando hay una bajo aporte de nutrientes. Esto se puede corroborar ya que al ser utilizado se aislaron 8 cepas del suelo boscoso para *A. excelsum*, y 6 cepas de suelo desprovisto de vegetación.

Con respecto al ensayo de germinación de semillas en la figura 1 se observa que las primeras semillas en germinar fueron las tratadas con *Bacillus licheniformis* ya que estas al quinto día alcanzaron el 2%, a partir del día 6 se inició la germinación en las semillas tratadas con *Pseudomonas putida* con el 2% y en el día 8 en las semillas tratadas con *Pseudomonas fluorescens* con un 14%. En las semillas tratadas con el sólo medio de cultivo se inició la germinación en el día 9 y en el tratamiento testigo al día 12 no había iniciado la germinación, dejando ver que los biopreparados con inoculo bacteriano aceleraron el crecimiento de las semillas, ya que la literatura reporta el inicio de la germinación de las semillas de Caracolí a partir de la tercera semana (Bird life internacional 2006), obteniendo entonces una ventaja en el inicio de la germinación en comparación con las semillas tratadas sin las bacterias. Lo que favorece el proceso de reforestación en cuestión al tiempo.

Finalmente el mejor tratamiento correspondió al 1 (*Bacillus licheniformis*) con un 70% de las semillas germinadas a los 12 días, en comparación con los tratamientos 2 (*Pseudomonas fluorescens*) con un 66%, 3 (*Pseudomonas putida*) con un 58%, 4 (Medio de cultivo) con

un 22% y el tratamiento Testigo con 0% de semillas germinadas (Figura 1). Entre estos valores se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tratamiento 1, 4 y 5 únicamente, entre el tratamiento 1, 2 y 3 no se presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Lo anterior coincide con autores como Galindo (2005) los cuales han reportado la actividad de estos microorganismos como MPCV en numerosos estudios científicos, especialmente en plantas de interés agrícola, y muy poco en plantas de interés forestal. Los resultados muestran un efecto positivo de germinación en las semillas con los biopreparados que contenían bacterias, observándose un aumento progresivo del inicio de la germinación a diferencia de las semillas a las que solo se les suministró caldo nutritivo y el tratamiento control. Esto se explica ya que *Bacillus licheniformis* actúa como biocatalizador orgánico natural, asegurando una rápida colonización de la rizósfera, acelerando el crecimiento, vigor y sano desarrollo de la planta. Por otra parte una de las características de la *Pseudomonas fluorescens* es su alta capacidad de solubilización del fósforo lo cual genera una mayor cantidad de fosfato para ser absorbido por las raíces de las plantas (Galindo, 2005).

Otro aspecto destacable es la posibilidad de que *Pseudomonas fluorescens* produzca sustancias estimuladoras del crecimiento. En diversos estudios, se ha encontrado que *Pseudomonas sp* posee la propiedad de producir estas sustancias, cuyas principales ventajas son: estimular la germinación de las semillas, acelerar el crecimiento de las plantas especialmente en sus primeros estadios, inducir la iniciación radicular e incrementar la formación de raíces y pelos radiculares (Campbell, et al 1990), al igual que la *P. putida*, presenta la capacidad de colonizar el sistema radicular de plantas y de formar biopelículas. (Dibut, B 2000).

Conjuntamente se ha demostrado que un factor que redunde en la promoción de crecimiento por parte de los microorganismos solubilizadores de fosfato (MSF) es la producción de reguladores de crecimiento vegetal. (Valero, 2003) y (Sánchez *et al.* 2005), encontraron una producción de ácido indolacético, AIA, entre 51 mg/L y 23 mg/L, en cultivos de MSF (*Pseudomonas sp.*) a las 72 horas de incubación. Sin embargo, desconocemos si nuestras cepas producen AIA y si este factor influyó en el establecimiento y/o promoción del crecimiento de las semillas de *Anacardium excelsum*, pero esto podría ser objeto de futuros estudios.

En la Figura 2 se aprecia el experimento correspondiente al ensayo de estimulación del crecimiento, en el día 27 de la medición después de inoculadas las plantas se presentó el mejor resultado en cuanto al desarrollo foliar en el tratamiento 2 (*Pseudomonas fluorescens*) con 6 hojas, a continuación el tratamiento 4 (mixto) con 6 hojas, el tratamiento 3 (*Pseudomonas putida*) con 5, el tratamiento 1 (*Bacillus licheniformis*) con 4 hojas, y el tratamiento que presentó el menor efecto fue el tratamiento control con 3 hojas.

En el día 53 el mayor número de hojas lo obtuvo el tratamiento 2 (*Pseudomonas fluorescens*) con 8 hojas, el tratamiento 1 (*Bacillus licheniformis*) y 3 (*Pseudomonas putida*) obtuvieron 7 hojas, y en el control 6 hojas. En el día 70 después de inoculadas las semillas el tratamiento 2 (*Pseudomonas fluorescens*) con 10 hojas sigue en primer lugar en cuanto a número de hojas y el control sigue siendo el menor, demostrándose el efecto positivo de la *P. fluorescens* en el desarrollo foliar de las plantas de Caracolí.

En cuanto al efecto de la inoculación de los biopreparados sobre longitud de tallo y raíces, en la Figura 3 se presentan claras diferencias entre los tratamientos 1, 2, 3 frente a los tratamientos 4 y 5, esto nos indica que T1, T2, T3 son estadísticamente superiores al T4-T5, concordando con los resultados obtenidos en la germinación de semillas de *Anacardium excelsum* ya que T1, T2, T3 germinaron 12 días antes del medio de cultivo y el testigo no había iniciado aun la germinación.

T1, T2, T3 no tuvieron un efecto marcado en la longitud de la raíz pero si en el follaje, lo que indica que no se produjo un efecto hormonal pero si nutricional, esto coincide con el hecho de que las bacterias en estudio se encuentran reportadas en la literatura como solubilizadoras de fosfato y fijadoras de nitrógeno que en últimas son elementos que nutren las plantas.

En el efecto de la inoculación de los biopreparados sobre el número de hojas y raíces secundarias en la Figura 4, de acuerdo al análisis de varianza no se presentaron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos, sin embargo, en el tratamiento 1 inoculado con *B.licheniformis* se observó diferencias respecto al testigo (T5), esto sugiere que dicha inoculación mejora el desarrollo foliar y las raíces secundarias, es decir, se produce un efecto hormonal y nutricional en las plántulas de *A. excelsum*.

Por último en cuanto al efecto de la inoculación de los biopreparados sobre la biomasa de raíz y la biomasa de follaje, la Figura 5 se observa que el tratamiento 1 presenta una leve diferencia en biomasa de raíz y biomasa de follaje respecto al tratamiento 5 que corresponde al testigo, indicando que la inoculación si beneficia las plántulas sin embargo la diferencia estadística no fue significativa. El mejor tratamiento se evidenció utilizando la bacteria *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas fluorescens* respectivamente.

Para el análisis de varianza y las comparaciones múltiples se comprobó que los datos obtenidos cumplieran los Supuestos de Normalidad:

1. Test de homogeneidad de varianza por la prueba de Levene.
2. Distribución normal de error.
3. Independencia entre los datos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Glick B., Patten C., Holguín G. & Penrose M. 1999.** Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria London: Imperial College Press.
- Elster C. 2000.** Reasons for Reforestation Success and Failure with Three Mangrove Species in Colombia. For Ecol Manage. 2000;131:201-214.
- BirdLife International. 2006.** Fichas de especies para migratorias neotropicales en las IBAS: Eco-parque Los Besotes. Downloaded from <http://www.birdlife.org> on 29/8/2006.
- Acevedo R. 1992.** Variabilidad Morfofisiopatológica del Hongo *Sclerotium cepivorum Berk*, agente causal de la Pudrición blanca del ajo. Trabajo de ascenso, Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET), San Cristóbal, Estado Táchira, Venezuela.
- Galindo T. 2005.** Capacidad solubilizadora de fosfatos de microorganismos rizosféricos en dos manglares del Caribe colombiano. [Trabajo de Grado] Bogotá: Departamento de

Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

**Campbell, R., Greaves, M. 1990.** Anatomy and community structure of the rhizosphere. In Lynch, J.M (eds). The rhizosphere. John Wiley & Sons Ltda., Chichester, p. 11-34.

**Dibut, B. 2000.** Importancia de los biofertilizantes a base de microorganismos rizoféricos. En programas y Resúmenes XII Seminario Científico Instituto Nacional de ciencias Agrícolas. La Habana Cuba.

**Valero N. 2003.** Potencial biofertilizante de bacterias diazotróficas y solubilizadoras de fosfatos asociadas al cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) Tesis de maestría. Maestría interfacultades Microbiología, Universidad Nacional de Colombia.

**Sánchez J., Valencia H. & Valero N. 2005.** Producción de ácido indolacético por microorganismos solubilizadores de fosfatos presentes en la rizósfera de *Espeletia grandiflora* y *Calamagrostis effusa* del páramo El Granizo. En: MA, Bonilla. Editor. Estrategias adaptativas de plantas del páramo y del bosque alto andino en la cordillera Oriental de Colombia. Bogotá: Unibiblos; 177-193.

**Cuadro 1.** Componentes utilizados para la preparación del medio de cultivo “agar extracto de suelo”.

CANTIDAD	COMPONENTES	ESPECIFICACIONES
50gr/lt	Extracto de suelo.	Los tres primeros ingredientes son agitados vigorosamente por 5 min. y se dejan reposar para obtener sedimentación, se toma el sobrenadante y se le agrega agar-agar.
10 gr/lt	Macerado de raíz de cada <i>A. excelsum</i>	
450 ml/lt	Agua destilada	
25 gr/lt	Agar – Agar	

**Cuadro 2.** Realizadas a los morfotipos seleccionados para la Identificación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en la rizósfera de *Anacardium excelsum*.

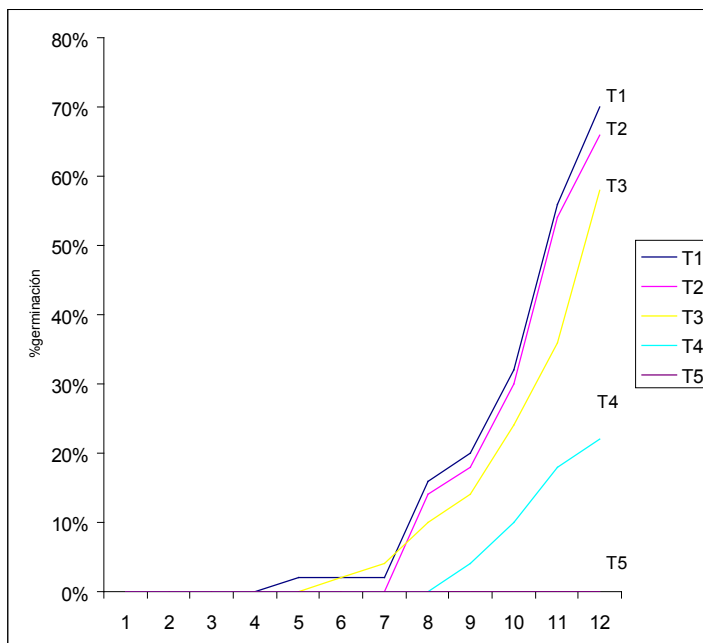
Morfotipos Seleccionados	Tinción Gram	Prueba de Catalasa	Prueba de Oxidasa	OF	Crecimiento 4°C	Crecimiento 42°C	Utilización del Manitol	Licuefacción de gelatina
M9	-	+	+	O	+	-	-	-
M22	-	+	+	O	+	-	+	+
M24	-	+	+	O	+	-	-	-

M9= *Bacillus licheniformis*. M22= *Pseudomonas fluorescens* M24= *Pseudomonas putida*

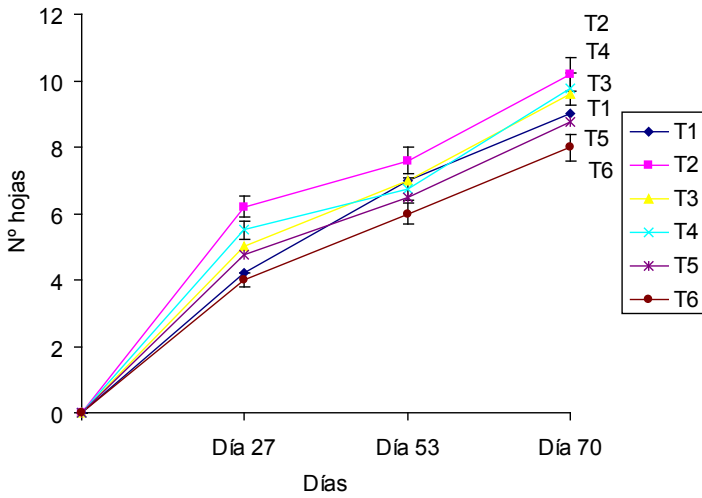


**Cuadro 3.** Descripción de tratamientos para la evaluación del porcentaje de germinación de los biopreparados sobre las plántulas de *Anacardium excelsum*.

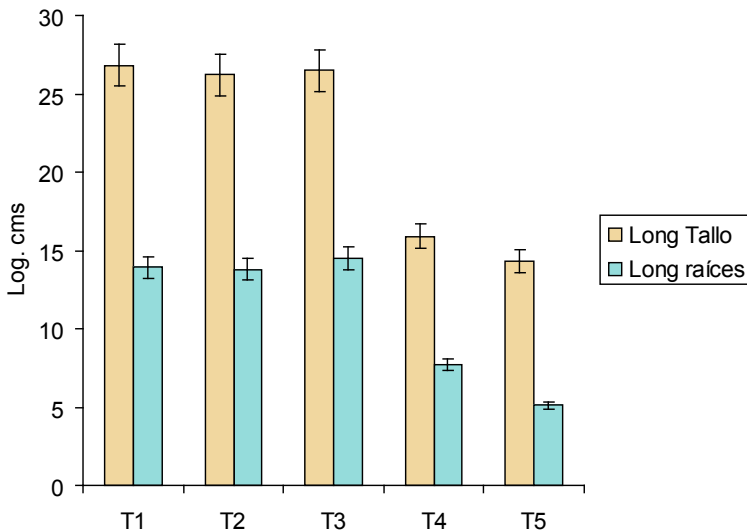
TRATAMIENTO	APLICACIÓN DE:
1. Biopreparado con inoculo de <i>Bacillus licheniformis</i>	500 g de suelo + 50 semillas de Caracolí + 50 ml de biopreparado de <i>B. licheniformis</i> .
2. Biopreparado con inoculo de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	500 g de suelo + 50 semillas de Caracolí + 50 ml de biopreparado de <i>P. fluorescens</i> .
3. Biopreparado con inoculo de <i>Pseudomonas putida</i>	500 g de suelo + 50 semillas de Caracolí + 50 ml de biopreparado de <i>P. putida</i> .
4. Medio de cultivo	500 g de suelo + 50 semillas de Caracolí + 50 ml de biopreparado sin inoculo bacteriano. (solo nutrientes)
5. Testigo	500 g de suelo + 50 semillas de Caracolí.



**Figura 1.** Velocidad de germinación de los tratamientos evaluados sobre la germinación de *Anacardium excelsum*.

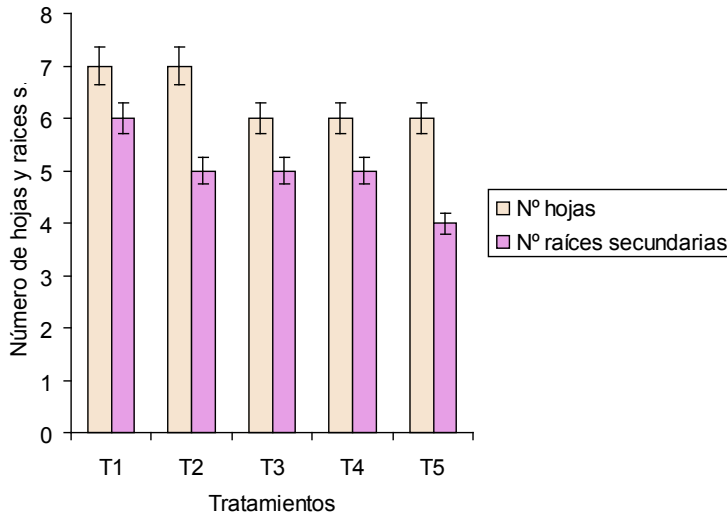


**Figura 2.** Promedio de número de hojas de 3 mediciones realizadas los días 27, 53 y 70 en los 6 tratamientos evaluados.



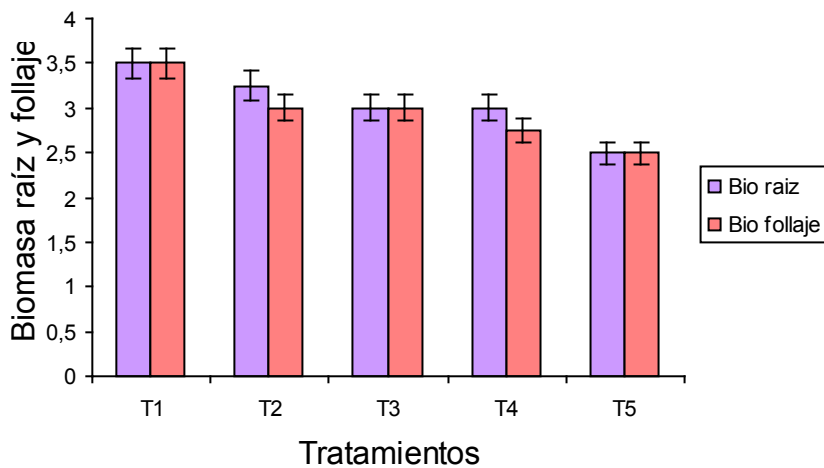
T1= *B. licheniformis* T2= *P. fluorescens* T3= *P. putida* T4= Medio de cultivo T5= Testigo

**Figura 3.** Efecto de la inoculación sobre longitud de tallo y raíces en las plántulas de *A. excelsum*.



T1= *B. licheniformis* T2= *P. fluorescens* T3= *P. putida* T4= Medio de cultivo T5=testigo

**Figura 4.** Efecto de la inoculación de los biopreparados sobre número de hojas y raíces secundarias de las plántulas de *A. excelsum*.



**Figura 5.** Efecto de la inoculación de los biopreparados sobre biomasa de raíz y follaje en *A. excelsum*.