

RESPUESTA DE *Phaseolus vulgaris* A RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO Y RESISTENCIA INDUCIDA A *Xanthomonas campestris*

RESPONSE OF *Phaseolus vulgaris* TO GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA AND INDUCED RESISTANCE TO *Xanthomonas campestris*

JOSÉ A. LAYNEZ G.

Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas, Escuela de Ingeniería Agronómica,
Departamento de Agronomía, Campus "Los Guaritos", Maturín
jalaynezg@yahoo.es

RESUMEN

Se evaluó la respuesta de *Phaseolus vulgaris* inoculada con bacterias Promotoras del Crecimiento "PGPR" y su influencia sobre la severidad de la quemazón por *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli*. Se usó un diseño en parcelas divididas con tres repeticiones, como Parcela principal el estado de la planta (con/sin enfermedad), Subparcelas, los cultivares (Tacarigua y Montalban), y Sub-subparcelas, las cepas (*Beijerinckia*, *Pseudomonas* y su combinación (B + P)) y un control sin inocular. Se aplicó análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan, al 5% de significancia. Las variables evaluadas sobre los parámetros de crecimiento, nodulación, y rendimiento mostraron que la potenciación en el desarrollo de la planta solo fue apreciada en el mayor crecimiento de la raíz (longitud y peso seco, 25,73 cm y 0,34 g, respectivamente), en tanto que la longitud del tallo y el rendimiento (número de vainas, número de granos y gramos de semillas por planta) no se vieron afectados favorablemente. La inoculación con las cepas *Pseudomonas* y *Beijerinckia* en forma combinada estimuló la nodulación aumentando el número de nódulos medianos, grandes, activos, totales y el peso seco nodular. La evaluación de la resistencia sistémica adquirida a *Xanthomonas campestris* mediante la reacción diferencial en hojas y vainas mostró que no se logró activar mecanismos de resistencia sistémica inducida para este patógeno. Se concluye que aun cuando fue demostrada una interacción beneficiosa por las PGPR al incrementar los parámetros asociados a la nodulación, esto no parece haber influido favorablemente en el crecimiento y rendimiento de la planta, como tampoco en el desarrollo de una acción protectora contra la enfermedad.

PALABRAS CLAVE: PGPR, quemazón, caraota, *Beijerinckia*, *Pseudomonas*.

ABSTRACT

The response of *Phaseolus vulgaris* inoculated with plant growth promoting rhizobacteria "PGPR" and its influence on the severity of the common bacterial blight of the beans (*Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli*), was evaluated. A split-plot design was used with three replications, being the main plot the state of the plant (with/without diseases), the sub-plots the cultivar beans (Tacarigua and Montalban), and the sub-subplots the strains (*Beijerinckia* and *Pseudomonas* and their respective combinations (B + P)) and an uninoculated control. Analysis of variance and Duncan's test of multiple ranges at a 5% level of significance were applied. The evaluation of the growth, nodulation, and yield parameters showed that the potentiation in the plant growth was only detected in the root (25.73 cm of length and 0.34 g of dry weight, respectively), while the length of the stem and the plant yield (number of pods, grains and seeds mass for plant) were not positively affected. The inoculation with the strains *Pseudomonas* and *Beijerinckia* combinedly, stimulated nodulation, increasing the number of medium-sized, big, active, total nodules and the nodular dry weight. The evaluation of the acquired systemic resistance to *Xanthomonas campestris* through the differential reaction in leaves and pods showed that induced systemic resistance mechanisms could not be activated for this pathogen. It can be concluded that even though a beneficial interaction was demonstrated by the PGPR as the parameters associated to the nodulation increased, this does not seem to have influenced positively the growth and yield of the plant, and neither did it affect the development of a protective action against the disease.

KEY WORDS: PGPR, common bacterial blight, bean, *Beijerinckia*, *Pseudomonas*

INTRODUCCIÓN

Las rizobacterias (bacterias de la rizósfera: interfase entre la superficie radical y el suelo) ejercen un efecto sobre el crecimiento de las plantas que puede ser neutral, deletéreo o beneficioso. Aquellas benéficas han recibido el nombre de rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR, por sus siglas en inglés). Los efectos beneficiosos de las PGPR se deben a distintos mecanismos, como: síntesis de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, fijación de nitrógeno, solubilización de nutrientes, producción de sideróforos y control de fitopatógenos del suelo. En las leguminosas, se ha observado que afectan la fijación simbiótica de nitrógeno, mejorando la nodulación (número y masa de nódulos) y la actividad de la nitrogenasa Chanway *et al.*, (1989); Halverson y Andelsman (1991), habiéndose comprobado la existencia de interacciones positivas con *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (Dahsti *et al.*, 1998; Bai *et al.*, 2002; Rao y Pal, 2003; Tilak *et al.* 2006).

Las mejoras en el crecimiento de las plantas por cepas PGPR comúnmente están acompañadas por reducciones de las poblaciones de hongos y bacterias en la zona de la raíz. Esto evidencia que algunas PGPR pueden no promover el crecimiento por sí mismas, pero si controlar antagónicamente patógenos de las raíces que obstaculizan la expresión completa del potencial de las plantas, estas PGPR producen quitinasas y glucanasas que lisan las células microbianas (Van Loon *et al.*, 1998). Por otra parte, también se ha señalado que algunas especies de *Pseudomonas* que están íntimamente asociadas con la raíz pueden inducir mecanismos de resistencia sistémica contra patógenos fúngicos o bacterianos Maurhofer *et al.*, (1994), provocando la protección de toda la planta frente a la enfermedad, con la consecuente reducción en el uso de productos fitosanitarios.

Entre las leguminosas de grano alimenticio la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), es según Mora (1997), la especie más importante en la alimentación en los países de Centro y Sur América y los ubicados en la región central y del este en África. América Latina es la zona, a nivel mundial, de mayor producción y consumo, estimándose que el 30% de la producción mundial proviene de este continente. Brasil y México son los mayores productores (78%) y consumidores (grano seco) de América Latina. Argentina es el tercer país productor seguido de Chile, Guatemala y Colombia. África es el segundo productor, a nivel mundial, de esta leguminosa, siendo los países de Uganda, Kenya, Rwanda, Tanzania y Burundi los de mayor producción. Sin embargo, a pesar de ser una

leguminosa tan importante en consumo a nivel mundial, es la especie de más baja capacidad de nodulación y fijación de N₂ atmosférico (Peña-Cabriales, 2000).

Siendo diversos los factores que determinan bajos rendimientos en el cultivo de la caraota, las enfermedades tienen un efecto importante sobre los mismos. La quemazón de la caraota causada por *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli*, es la enfermedad bacteriana de mayor importancia a nivel mundial, habiendo ocasionado grandes pérdidas en la producción de granos secos en África, Australia, Brasil, Canadá, Colombia, Chile, E.E.U.U., Europa, República Dominicana, Nueva Zelanda y Puerto Rico (Beaver *et al.*, 1985; Arnaud-Santana *et al.*, 1991; Contreras, 2000).

Considerando el potencial de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal y la importancia que tiene en nuestro país el cultivo de caraota como la leguminosa de mayor consumo, así como la necesidad de conocer la biodiversidad de rizobacterias con potencialidad efectiva en la mejora del crecimiento y desarrollo de las plantas, y las variedades de plantas que responden significativamente a la inoculación, se ha planteado como objetivo general, en el presente trabajo, evaluar la respuesta de *Phaseolus vulgaris* L. a la inoculación con bacterias Promotoras del Crecimiento “PGPR” y su influencia sobre la severidad de la Candelilla común de la caraota (*Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli*).

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en un invernadero, ubicado en la microestación del Instituto de Investigación Agropecuaria de la Universidad de Oriente (IIAPUDO), **Campus** Juanico, en Maturín estado Monagas, Venezuela, cuya ubicación geográfica es 9° 45' de latitud Norte y 63° 11' de latitud Occidental, a unos 65 msnm, con una temperatura media anual de 25,9 °C.

Se utilizaron semillas certificadas de caraotas de los cultivares Tacarigua y Montalban desinfectadas con etanol al 95 % por 10 segundos y Peróxido de Hidrógeno al 3% por 5 minutos y colocadas a germinar sobre papel absorbente, a los 6 días se seleccionaron las más vigorosas y se transplantaron a materos plásticos de 2 Kg de capacidad, a razón de 2 plántulas/matero. Se uso suelo no esterilizado. El riego se realizó con agua deionizada estéril.

Las cepas PGPR utilizadas pertenecieron a los géneros *Pseudomonas* y *Beijerinckia*, fueron suministradas

por el Laboratorio de Ecofisiología de la Universidad de Oriente, Maturín, estado Monagas, Venezuela. Se reactivaron en medio líquido YM Vincent (1975), a temperatura ambiente por ocho días con agitación constante (100 rpm). La solución para la inoculación de las PGPR tuvo una concentración de 10^9 bacterias/ml, determinada con la cámara de Petroff-Hausser. La inoculación de las plántulas se efectuó al momento del trasplante a los materos, utilizándose 3 ml de la solución con las cepas y sus respectivas combinaciones de acuerdo a los tratamientos, regada en la base del tallo de la plántula. Los testigos se inocularon con agua destilada estéril.

La inoculación de las plantas en hojas y vainas con la bacteria causante de la enfermedad de la "quemazón de la caraota", *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli* (en adelante *Xcpvph*), se realizó con el aislamiento 010 Xan, adquirido en la colección de patógenos bacterianos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, Maracay, estado Aragua. La inoculación foliar se ejecuto 14 días después de la siembra con crecimientos bacteriales de 48 horas. La solución usada contenía una concentración de 10^8 células bacterianas/ml, con control del número de bacterias por densidad óptica (0,5 de absorbancia, $\lambda = 600$ nm) y contaje con la cámara de Petroff-Hausser. Los testigos se inocularon con agua destilada estéril. El método de inoculación utilizado fue el corte con bisturí según técnica del CIAT (1980). Se inoculó el folíolo central de la tercera hoja trifoliada. La inoculación en vainas se realizó a los 60 días de edad de la planta y se utilizó el método de inoculación de punción con jeringa que goteaba crecimiento bacterial concentrado de 48 h de haber sido replicado. La aguja se inserto tres veces en cada vaina en los hundimientos en las semillas en desarrollo. Se inocularon vainas verdes con semillas en desarrollo (estado de protuberancia).

El diseño estadístico utilizado fue el de parcelas subdivididas con 3 repeticiones, donde la Parcela principal la conformó el estado de la planta (con enfermedad (CE) y sin enfermedad (SE)), las Subparcelas, los dos cultivares de caraota (Tacarigua y Montalban), y las Sub-subparcelas), las dos cepas de PGPR y sus respectivas combinaciones (P + B) y un control sin inocular.

Evaluación de la efectividad y eficiencia de las cepas PGPR

Para estimar la efectividad y eficiencia de las cepas de *Pseudomonas* y *Beijerinckia*, a los 35 días después de la

siembra se tomaron muestras de 6 plantas por tratamiento y se les determino su crecimiento y nodulación, y a los 80 días, se estimaron los componentes del rendimiento con las plantas restantes. Los parámetros tomados en cuenta para crecimiento fueron: longitud del tallo o eje principal (LT) (cm), longitud de la raíz (LR) (cm), y pesos secos de la raíz (PSR) y parte aérea (PSPA) (g) por secado en estufa a 70 °C hasta peso constante. Para nodulación, previo al proceso de secado de la raíz, los nódulos se cortaron y separaron para contarlos y categorizarlos por tamaño, número de nódulos pequeños por planta (NNP/P): < 2, número de nódulos medianos/planta (NNM/P): 2 – 4, y número de nódulos grandes/planta (NNG/P): > 4 – 6 mm de diámetro, número de nódulos/planta (NN/P), nódulos activos/planta (NA/P) (color rojo o rosado) y peso seco de los nódulos/planta (PSN/P) (mg): secados en estufa a 70 °C por 48 h. Para rendimiento, el número de vainas/planta (NV/P), número de granos/vaina (NG/V) y gramos de semilla/planta (GS/P).

Evaluación de la resistencia sistémica adquirida a *Xcpvph* mediante la reacción diferencial en hojas y vainas

Para determinar la resistencia sistémica adquirida a *Xcpvph* mediante la reacción diferencial en hojas y vainas. Se práctico la evaluación de la reacción a la inoculación foliar a los 12 días después de la inoculación (26 días de edad de la planta), midiendo el tamaño de las manchas foliares en 2 puntos de inoculación/tratamiento/repeticion, para un total de 12 mediciones por evaluación. La evaluación de la reacción a la inoculación en las vainas se realizó a los 7 días después de la inoculación (60 días de edad de la planta), midiendo el diámetro de la lesión (mm) alrededor de los 6 puntos de inoculación/tratamiento/repeticion, para un total de 18 mediciones por evaluación. Para la evaluación de la reacción en hojas y vainas se uso la escala de 1 a 9 de evaluación estándar del germoplasma de caraota del CIAT, (CIAT, 1987).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de la efectividad y eficiencia de las cepas PGPR

En la Tabla 1, puede observarse la comparación de lo promedios para los parámetros de crecimiento: longitud (cm) y peso seco de la raíz (g). La prueba de separación de medias para el factor cepas, indica que la mayor longitud de la raíz y el mayor peso seco de esta, se obtuvieron con las cepas en combinación, estadísticamente superiores al resto de los tratamientos, los cuales resultaron iguales.

Tabla 1. Promedios de la longitud (cm) y peso seco de la raíz (g) al inocular *Phaseolus vulgaris*, cultivares Tacarigua y Montalban, con las cepas PGPR. Efecto de las cepas.

| CEPAS | LR (cm) | PSR (g) |
|---------------------|-------------|------------|
| P + B | 25,73 A (†) | 0,34 A (†) |
| <i>Pseudomonas</i> | 15,41 B | 0,25 B |
| <i>Beijerinckia</i> | 14,38 B | 0,20 B |
| Sin inculo | 17,66 B | 0,18 B |

(†): Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($p < 0,05$). Letras iguales indican promedios estadísticamente iguales.

El incremento observado en la longitud de la radícula y consecuentemente en el peso seco de la misma por efecto de la inoculación de las plantas con las cepas *Pseudomonas* y *Beijerinckia* en forma combinada (P + B), sugiere un posible efecto sinérgico producto de su acción conjunta. Este efecto pudiera haber influido sobre el crecimiento en longitud de la radícula y la acumulación de materia seca por si solo o haber facilitado la actividad de los rizobios presentes naturalmente en el suelo. Investigaciones señalan mejoras en el crecimiento de la raíz cuando participan microorganismos asociados a la rizosfera de las plantas conjuntamente con los simbióticos, Okon y Vanderleyden (1997), hacen referencia a los efectos positivos para diversos tipos de leguminosas cuando se realiza inoculación con *Rhizobium* y *Azospirillum*, señalando un mejoramiento general del desarrollo del sistema radical. Burdman *et al.* (2000) reportan que cuando *P. vulgaris* es inoculada con *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* y *Azospirillum brasilense*, el crecimiento de las plantas es acelerado por la actividad estimuladora de *Azospirillum*, promoviendo la formación de pelos radicales, actividad acompañada por el incremento de la secreción de genes de nodulación (nod), induciendo flavonoides en los exudados radicales. La excreción de estos genes es necesaria para la posterior infección por *Rhizobium*. Ha sido observado también en el género *Azotobacter* capacidad para producir fitohormonas y vitaminas, tales como, ácido indolacético, ácido giberélico, citoquininas, tiamina, ácido pantoténico, ácido nicotínico y biotina, las cuales

intervienen directamente en el desarrollo vegetal y dan lugar a un alargamiento y acondicionamiento de la raíz para facilitar la infección por *Rhizobium* y la posterior nodulación (González y Lluch, 1992; De Troch, 1993; Baldini, 1997; Mayea *et al.*, 1998).

La Tabla 2 presenta las comparaciones de los promedios para los parámetros de crecimiento y rendimiento, longitud del tallo (cm), número de granos por vaina y gramos de semillas por planta (GS/P). La prueba de separación de medias para el factor cultivares, indica que la mayor longitud del tallo, el mayor número de granos/vaina y el mayor rendimiento en gramos de semillas por planta correspondió al cultivar Tacarigua, estadísticamente superior a Montalban.

Las PGPR no mostraron potencialidad para incrementar el crecimiento en longitud de la parte aérea de las plantas y su rendimiento. Únicamente es resaltada la superioridad como variedad de Tacarigua en relación a Montalban (Tabla 2). Contrariamente a estos resultados, las investigaciones sobre PGPR coinciden en señalar su gran influencia en la promoción del crecimiento y desarrollo de las plantas, fundamentado esto en la solubilización de fosfato Rodríguez y Fraga (1999), la producción de sideróforos Carson *et al.*, (2000), la fijación de nitrógeno Sessitsch *et al.*, (2002), la inhibición de patógenos Essalmani y Lahlou (2003), y la producción de sustancias que estimulan el crecimiento vegetal (Perrine *et al.*, 2004).

Tabla 2. Promedios de la longitud del tallo (LT en cm) número de granos por vaina (NG/V) y gramos de semillas por planta (GS/P) al inocular *Phaseolus vulgaris*, con las cepas PGPR *Pseudomonas* y *Beijerinckia*. Efecto de los cultivares.

| CULTIVARES | LT (cm) | NG/V | GS/P |
|------------|-------------|------------|------------|
| Tacarigua | 49,92 A (†) | 5,76 A (†) | 4,24 A (†) |
| Montalban | 35,38 B | 4,89 B | 3,18 B |

(†): Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($p < 0,05$). Letras iguales indican promedios estadísticamente iguales.

En consideración, la acción de las PGPR puede presentar dos vías, los mecanismos indirectos y los mecanismos directos. Jiménez *et al.* (2001), señala que los mecanismos indirectos implican metabolitos producidos por las PGPR que pueden funcionar como determinantes antagónicos, involucran aspectos de control biológico, suprimen o inhiben el crecimiento de microorganismos perjudiciales para el desarrollo de la planta. Aislamientos específicos del grupo *Pseudomonas fluorescens-Pseudomonas putida* causan incrementos en el rendimiento estadísticamente significativos (Leong 1986). Las mejoras en el crecimiento de las plantas causadas por estos aislamientos están acompañadas a menudo por reducciones de las poblaciones de hongos y bacterias en la zona radical. Los mecanismos directos implican metabolitos producidos por algunas cepas de rizobacterias que son utilizados como reguladores de crecimiento o precursores de éstos por parte de la planta (Jiménez *et al.*, 2001). Varios estudios sugieren que los sideróforos fluorescentes amarillo-verdosos producidos por pseudomonadas fluorescentes beneficiosas para las plantas son parcialmente responsables de la mejora del crecimiento (Leong, 1986). La conjunción de ambos mecanismos de acción ha dado como resultado la promoción evidente del crecimiento en plantas; se ha observado un incremento en la emergencia, el vigor y el peso de plántulas, un mayor desarrollo en sistemas radiculares y un incremento hasta de 30% en la producción de cultivos de interés comercial, tales como papa, rábano, jitomate, trigo y soya (Jiménez *et al.*, 2001).

En la Tabla 3 se presentan las comparaciones de los promedios para los parámetros de nodulación: número de nódulos medianos, nódulos grandes, nódulos activos, nódulos totales y peso seco de los nódulos por planta. La prueba de separación de medias para el factor cepas, señala que el mayor número de nódulos medianos, nódulos grandes, nódulos activos, nódulos totales y peso seco de los nódulos por planta correspondió

a la combinación P + B, estadísticamente superior a los otros tratamientos seguida por la cepa *Pseudomonas*, estadísticamente igual a los valores obtenidos en estos parámetros con la cepa *Beijerinckia*, y los menores valores correspondieron al tratamiento sin inóculo, similar estadísticamente al anterior, pero diferente a los dos primeros tratamientos. La prueba de promedios para el número de nódulos grandes mostró que la mayor cantidad de estos se presentó en la combinación P + B, superior estadísticamente a las cepas *Pseudomonas*, *Beijerinckia*, y al testigo, estos últimos similares entre sí.

Para el número de nódulos pequeños (< 2 mm de diámetro), en el análisis de varianza no se encontraron efectos significativos para ninguno de los factores en estudio o sus interacciones, la media para este parámetro fue de 12,80 nódulos pequeños/planta.

En general, los parámetros de nodulación mostraron un efecto positivo de la inoculación con las cepas PGPR con respecto al testigo (sin inoculación), tanto para la inoculación individual, como para el efecto de la inoculación combinada (*Pseudomonas* + *Beijerinckia*), siendo el efecto de esta última superior en todos los casos. Tal comportamiento refuerza la idea de una interacción beneficiosa entre las PGPR inoculadas y los rizobios naturalmente presentes en el suelo en estudio. Inoculaciones con bacterias colonizadoras de la raíz y rizobianas han demostrado afectar la fijación simbiótica de nitrógeno y mejorar el número y masa de los nódulos en *Phaseolus vulgaris*. Grimes y Mount (1984), estudiaron el efecto de *Pseudomonas putida* (aislamientos M17 y M174) sobre la nodulación de *Rhizobium phaseoli* en caraota, bajo condiciones de invernadero y a nivel de campo, sus resultados indican que *P. putida* incremento notablemente la nodulación en condiciones de invernadero respecto al testigo con *R. phaseoli*, tanto en suelo esterilizado, como en suelo sin esterilizar, apreciando resultados similares a nivel de campo.

Tabla 3. Promedios para el número de nódulos medianos (NNM/P), nódulos grandes (NNG/P), nódulos activos (NNA/P), nódulos totales (NNT/P) y peso seco de los nódulos por planta (PSN/P) al inocular *Phaseolus vulgaris*, cultivares Tacarigua y Montalban, con las cepas PGPR. Efecto de las cepas.

| CEPAS | NNM/P | NNG/P | NNA/P | NNT/P | PSN/P |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| P + B | 17,67 A (†) | 19,13 A (†) | 27,28 A (†) | 46,29 A (†) | 15,16 A (†) |
| <i>Pseudomonas</i> | 12,83 B | 12,75 B | 20,34 B | 38,00 B | 12,41 B |
| <i>Beijerinckia</i> | 9,71 BC | 10,46 B | 17,41 BC | 32,16 BC | 10,58 BC |
| Sin inóculo | 8,79 C | 9,25 B | 15,45 C | 27,17 C | 9,03 C |

(†): Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($p < 0,05$). Letras iguales indican promedios estadísticamente iguales.

De igual forma Burdman *et al.* (1997) estudiaron el efecto de *Azospirillum brasilense* sobre la nodulación de caraota y encontraron que *Azospirillum* combinado con *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* produjo un aumento en el número total de nódulos y la fijación de N₂ atmosférico, además de una temprana nodulación. Efectos positivos sobre la nodulación han sido reportados también en otras especies. Tilak *et al.* (2006) estudiaron los efectos sinérgicos de rizobacterias promotoras del crecimiento y *Rhizobium* sobre la nodulación y la fijación de nitrógeno en *Cajanus cajan* y encontraron que la co-inoculación de todas las cepas de PGPR (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida* y *Bacillus cereus*) con la cepa de rizobio AR-2-2 k produjo más nódulos y un mayor peso seco de estos que la simple inoculación con rizobio o el control sin inoculación alguna.

En el presente trabajo la potencialidad de las PGPR para incrementar el rendimiento no demostró efectos positivos, solo fue resaltada la superioridad natural del cultivar Tacarigua en relación a Montalbán en el número de granos/vaina y los gramos de semilla por planta. La falta de efecto sobre el rendimiento puede ser explicada, dado que los componentes del rendimiento expresan una medida del comportamiento de las diferentes variables evaluadas en el crecimiento y desarrollo, donde a pesar del incremento favorable sobre los parámetros de nodulación (número de nódulos medianos y grandes, número total de nódulos/planta, nódulos activos y peso seco de los nódulos) producto de la inoculación con las cepas PGPR, esta contribuyó pobremente en promover el desarrollo vegetativo del tallo en las plantas de caraota.

Evaluación de la resistencia sistémica adquirida a *Xcpvph* mediante la reacción diferencial en hojas y vainas

La Tabla 4, reporta la prueba de separación de medias de la reacción foliar (mm) obtenida al inocular caraota, la reacción foliar estimada en mm de Montalbán fue estadísticamente superior a la de Tacarigua. Resultados similares fueron encontrados por Contreras (2000), quien al caracterizar a nivel de invernadero la resistencia de germoplasma de caraota a *Xcpvph* mediante la reacción diferencial en hojas observo al determinar la susceptibilidad en función de la reacción en mm en el follaje la mayor media en la variedad comercial Moltalbán (19,69 mm), que resulto más susceptible que la variedad comercial Tacarigua (13,50 mm).

Para la reacción foliar en grados, el análisis de varianza no encontró diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para ninguno de los factores en estudio y sus interacciones. Tampoco se encontraron diferencias desde el punto de vista estadístico para la reacción en vainas en mm y en grados, es decir, los dos cultivares de caraota tuvieron un comportamiento similar al ataque del patógeno cuando se inoculó las vainas, y a la vez, no existió acción protectora contra la enfermedad por efecto de la inoculación de las cepas PGPR. La vaina presento en la zona de inoculación una mancha rojiza delimitada por un borde aun más rojizo y un exudado, indicativo esto del avance de la bacteria. La reacción en las vainas en grados se mantuvo para todos los tratamientos en los que estuvo presente la enfermedad dentro de la categoría de resistencia intermedia. Iguales resultados encontró Contreras (2000), al estudiar la reacción diferencial en vainas (mm) a *Xcpvph* en 25 líneas de caraota (incluidas Montalbán y Tacarigua) en condiciones de invernadero, concluyendo que todas las líneas presentaron un comportamiento similar ante la infección.

Tabla 4. Promedios de la reacción foliar (mm) al inocular *Phaseolus vulgaris*, con *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli*. Efecto cultivares.

| CULTIVARES | REACCIÓN FOLIAR (mm) |
|------------|----------------------|
| Montalbán | 7,38 A (†) |
| Tacarigua | 5,56 B |

(†): Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($p < 0,05$). Letras iguales indican promedios estadísticamente iguales.

CONCLUSIONES

1. La inoculación con las cepas *Pseudomonas* y *Beijerinckia* en forma combinada estimulo la nodulación de la caraota (*Phaseolus vulgaris*).

2. La potenciación en el desarrollo de la planta solo fue apreciada en el mayor crecimiento de la raíz (longitud y peso seco), en tanto que la longitud del tallo y el rendimiento (número de vainas/planta, número de granos/vaina y gramos de semillas/planta) no se vieron afectados favorablemente.

3. Las cepas de *Pseudomonas* y *Beijerinckia* no activaron mecanismos de resistencia sistémica adquirida a *Xanthomonas campestris* pv *Phaseoli*, ni en hojas, ni en vainas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNAUD-SANTANA E.; PENA-MATOS E.; COYNE D.; VIDAVER A. 1991. Longevity of *Xanthomonas campestris* pv *Phaseoli* in naturally infested dry bean (*Phaseolus vulgaris*) Debris. *Plant Diseases*. 75: 952-953.
- BAI Y.; D'AOUST F.; SMITH D.; DRISCOLL B. 2002. Isolation of plant-growth-promoting *Bacillus* strains from soybean nodules. *Canadian Journal of Microbiology*. 48: 230-238.
- BALDINI Y. 1997. Recent advances in BFN with non-legume plants. *Soil Biology Biotechnology*. 29 (5): 911-922.
- BEAVER J.; PANIAGUA C.; STEDMAN J.; ECHAVEZ-BADEL R. 1985. Reaction of dry bean genotypes to natural infection of foliar diseases in the Dominican republic. *Journal of Agriculture of University of Puerto Rico*. 69(3): 283-290.
- BURDMAN S.; HAMAOU B.; OKON, Y. 2000. Improvement of legume crop yields by co-inoculation with *Azospirillum* and *Rhizobium*. The Otto Warburg Center for Agricultural Biotechnology. The Hebrew University of Jerusalem, Israel. pp. 145-152.
- BURDMAN S.; KIGEL J.; OKON Y. 1997. Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and growth of common bean (*P. vulgaris* L.). *Soil Biology Biochemistry*. 29 (5) 923-929.
- CARSON K.; MEYER J.; DILWORTH M. 2000. Hydroxamate siderophores of root nodule bacteria. *Soil Biology y Biochemistry*, 32: 11-21.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). 1980. Más resistencia al añublo común. Hojas de frijol para América Latina. Cali, Colombia. 56 p.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). 1987. Sistema Estándar para la valuación de Germoplasma de frijol. Cali, Colombia. 58 p.
- CHANWAY C. 1997. Inoculation of tree roots with plant growthpromoting soil bacteria: An emerging technology for reforestation. *For. Sci.* 43: 99-112.
- CHANWAY C.; HYNES R.; NELSON L. 1989. Plant growth promoting rhizobacteria: effects on growth and nitrogen fixation on lentil (*Lens esculenta* Moench.) and Pea (*Pisum sativum* L.) *Soil Biol. Biochem.* 21: 511-517.
- CONTRERAS N. 2000. Reacción de germoplasma de *Phaseolus vulgaris* L. a la bacteria de la quemazón de la caraota *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli* (Smith, 1897) Dye, 1978. Tesis Doctor en Ciencias Agrícolas, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay, (Edo. Aragua), Venezuela. pp. 47-68.
- DAHSTI N.; ZHANG F.; HYNES R.; SMITH D. 1998. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean [*Glycine max* (L.Merr.)] under short season conditions. *Plant and Soil*. 200: 205-213.
- DE TROCH, P. 1993. Bacterial surface polisaccharides in relation: a genetic and chemical study of *Azospirillum brasilense*. *Disertaciones de la Agricultura*. p 238.
- ESSALMANI H., LAHLOU H. 2003. Mécanismes de bioprotection des plantes de lentile par *Rhizobium leguminosarum* contre *Fusarium oxysporum* sp. *Lentis. C.R. Biologies*, 326: 1163-1173.
- GONZÁLEZ J.; LLUCH C. 1992. *Biología del Nitrógeno. Interacción Planta-Microorganismo*. Ed. Rueda. Madrid. España. pp. 141-161.
- GRIMES H., MOUNT M. 1984. Influence of *Pseudomonas putida* on nodulation of *Phaseolus vulgaris*. *Soil Biol. Biochem.* 16: 27-30.
- HALVERSON L.; HANDELSMAN J. 1991. Enhancement of soybean nodulation by *Bacillus cereus* UW 85 in the field and in growth chamber. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:2767-2770.
- HOFFLAND E.; BAKKER P., LOON V. 1997. Multiple disease protection by rhizobacteria that induce systemic resistance-reply. *Phytopathol.* 87: 122-138.
- JIMÉNEZ R.; VIRGEN G.; TABARES S.; OLALDE V. 2001.

- Bacterias promotoras del crecimiento de plantas: agro-biotecnología. Avance y Perspectiva. 20: 395-400.
- LEONG J. 1986. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 24 : 187-209.
- MAURHOFFER M.; HASE C.; MEUWLY P.; MÉTRAUX J.; DÉFAGO G. 1994. Induction of Systemic Resistance of Tobacco to Tobacco Necrosis Virus by the Root-Colonizing *Pseudomonas fluorescens* Strain CHAO: Influence of the *gacA* Gene and of Pyoverdine Production. Phytopathology 84 : 139 – 146.
- MAYEA S.; CARONE M.; NOVO R.; BOADO I., SILVEIRA E.; SORIA M.; MORALES Y.; VALIÑO, A. 1998. Microbiología Agropecuaria. Tomo II. Ed. Félix Varela. La Habana. pp 156-178.
- MORA O. 1997. Origen e importancia del cultivo de la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista de la Facultad de Agronomía (UCV) 23: 225-234.
- OKON Y.; VANDERLEYDEN J. 1997. Root associated Azospirillum species can stimulate plants. ASM News, 63 (7): 364-370.
- PEÑA-CABRIALES J. 2000. La Fijación Biológica de Nitrógeno en América Latina. El aporte de las técnicas isotópicas. IMPROSA. Irapuato, México. 120 pp.
- PERRINE F.; ROLFE B.; HYNES M.; HOCART C. 2004. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of indolacetic acid and tryptophan following aqueous chloroformate derivatisation of *Rhizobium* exudates. Plant Physiology and Biochemistry, 42: 723-729.
- RAO D.; PAL K. 2003. Biofertilizers in oilseeds production: status and future strategies. National Seminar on Stress Management in Oilseeds for Attaining Self Reliance in Vegetable Oils. Directorate of Oilseeds Research, Indian Council of Agricultural Research, Hyderabad, India, pp. 195–220.
- RODRÍGUEZ H.; FRAGA R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances. 17: 319-339.
- SCHROTH M.; WEINHOLD A. 1986. Root-colonizing bacteria and plant health. HortSci. 21: 1295-1298.
- SESSITSCH J.; HOWIESON X.; PERRET H.; ANTOUN H.; MARTINEZ-ROMERO E. 2002. Advances in *Rhizobium* Research. Critical Reviews in Plant Sciences. 21, Issue 4(1): 323-378.
- TILAK K.; RANGANAYAKI N.; MANOHARACHARI C. 2006. Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by pigeonpea (*Cajanus cajan*) European Journal of Soil Science. 57: 67–71.
- VAN LOON L.; BAKKER P.; PIETERSE C. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 36:453-483.
- VINCENT J. 1975. Manual Práctico de Rhizobiología. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. 200 p.
- ZHANG F.; DASHTI H.; SMITH D. 1996. Plant growth promoting rhizobacteria and soybean (*Glycine max* L. Merr.) nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root zone temperatures. Ann. Bot. 77: 453-459.