

Prospección de las micosis en los invernaderos de Villa del Prado (Madrid) y su incidencia en el cultivo de judía (*Phaseolus vulgaris* L.)

J. SINOBAS, C. IGLESIAS y A. GARCÍA

La prospección de las micosis de los invernaderos de Villa del Prado (Madrid), pretende contribuir a la elaboración de un inventario de las enfermedades de la judía (*Phaseolus vulgaris* L.) en el país.

Los análisis microbiológicos de los suelos de 8 invernaderos de la zona y de las plantas de judías secas se iniciaron en Septiembre de 1991. Los hongos aislados en plantas secas, se inocularon en judías en un experimento durante 50 días en cámara climática a 25 °C (14h/día) y 16 °C (10h/día), la luminosidad fue de 2.500-3.000 lux.

Los resultados de micoflora asociada a las raíces y rizosfera fue la siguiente: *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium* spp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Epicoccum* sp., *Gliocladium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus* sp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Stemphylium* sp., *Trichoderma* sp., *Verticillium* sp., *Pythium* sp., *Phytophthora* sp.

Las agrupaciones más frecuentes que encontramos entre los hongos de judías enfermas fueron *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*.

En las inoculaciones de judías (cv. Femira) con *F. solani*, el 16 % de las semillas no emergían. El 82 % restante manifestaban podredumbres superficiales de hipocótilo y raíces, aunque las plantas alcanzaron desarrollo normal. No se observaron síntomas de ataque en plantas en las inoculaciones con *F. oxysporum*, aunque el número de semillas no emergidas en la combinación *F. solani* + *F. oxysporum* fue inferior al producido en la inoculación con *F. solani*. Esto sugiere cierto antagonismo entre patógenos. El número de plantas no emergidas y muertas en las inoculaciones con *Rhizoctonia solani* fue del 20 y 24 % respectivamente. En el resto de las plantas se observaron podredumbres más profundas en hipocótilo y raíz y menor desarrollo de plantas. Los resultados en las inoculaciones combinadas *R. solani* + *F. solani* + *F. oxysporum* fueron similares a los producidos con *R. solani* sólo, lo que parece sugerir que *F. solani* y *F. oxysporum* no ejercen ningún efecto sobre la exteriorización del poder patógeno de *R. solani*.

J. SINOBAS, C. IGLESIAS y A. GARCÍA. EUITA. Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria, s/n. 28040 Madrid.

Palabras clave: prospección de las micosis, judías, invernaderos, Villa del Prado, (Madrid).

INTRODUCCION

En la vega del Alberche en el término de Villa del Prado, se cultivan bajo plástico unas 70 ha aproximadamente. Esta superficie está, salvo dos excepciones, distribuída entre pequeños horticultores con una superficie media de 1 ha.

Por lo general se suelen realizar dos cultivos por año. Primero, de primavera-verano a base de pepino, tomate y pimiento, aunque el pepino predomina. Segundo, de verano-otoño a base de judía, acelga y espinaca con predominancia de judía.

Este trabajo se inició como consecuencia de la visita de unos horticultores de la zona

a nuestro laboratorio, solicitando un análisis microbiológico de una muestra de suelo.

Iniciada la revisión bibliográfica, observamos que no aparecían citas sobre las enfermedades de la zona que en un principio pudieran orientarnos hacia el tipo de análisis a realizar. Por otra parte, pensamos que una ampliación del número de muestras de suelos representativa de la zona, nos permitiría hacer un inventario de las principales micosis de los invernaderos del término municipal citado y su posible incidencia en los distintos cultivos.

La primera visita a la zona en el mes de septiembre de 1991, coincidió con el cultivo de judía para consumo de vainas verdes ya establecido y cuyo desarrollo alcanzaba 20 cm. Aunque no de forma generalizada, si se observaba en varios invernaderos algunos golpes cuyas plantas estaban secas. Estas observaciones nos hicieron pensar en ampliar el estudio y delimitar el tipo de hongos responsables del secado de las judías.

MATERIALES Y METODOS

Muestreo

A primeros de septiembre de 1991 se recogieron muestras de suelo de 8 invernaderos representativos de la zona y elegidos al azar. En cada uno se trazaron cuatro líneas transversales y a lo largo de ellas, se fue recogiendo tierra a una profundidad de 20 cm e introducida en bolsas estériles. El secado de estas muestras se realizó en medio ambiente en laboratorio.

En los 8 invernaderos testados se cultivaban judías de las variedades Femira y Música.

La recogida de material vegetal se inició a finales de septiembre. El muestreo estaba representado por 10 golpes de judías secas por invernadero, de cada golpe de judías secas se recogía una planta. Se procuraba que las muestras fueran representativas del invernadero. Para su aislamiento se introducían independientemente en bolsas esterilizadas a las cuales se adjuntaba una etiqueta con el código correspondiente.

En el mes de octubre y noviembre en plena recogida de judías en verde, se hicieron dos nuevos seguimientos de la parte aérea de las judías que se habían desarrollado con normalidad.

Características de los invernaderos muestreados

Todos los invernaderos muestreados eran tipo túnel plastificado. En el mes de enero de 1991 los invernaderos I1 e I3, habían recibido estiércol de vaca. En I2, I4 e I8, el estiércol procedía de ovejas, siendo mezcla de ambos estiércoles los aportados a I6. Los invernaderos I5 e I7 no recibieron estercolado ese año.

Antes de implantar el primer cultivo, enero de 1991, los invernaderos I3, I4 e I6, se habían desinfectado con bromuro de metilo, el resto había sufrido este tipo de desinfección entre 1988 y 1990. Los codificados I1, I2, I5, I7 e I8, habían recibido tratamientos a base de Namacur en bandas entre 1990 y 1991. Estos datos proceden de la comunicación de los propietarios que de forma generalizada, parece que recuerdan con precisión los tratamientos con bromuro de metilo, en cambio, tienen cierta confusión sobre la aplicación de otros productos.

Técnicas de análisis

Las muestras de suelo una vez secadas, se pasaban por mortero para deshacer terrones y posteriormente se pasaban por tamiz de 200 μ y se depositaban en frascos con rosca esterilizados.

Para conocer la flora fusárica se utilizó el medio selectivo K propuesto por Komada (1975).

En el análisis de suelos para conocer su microflora total, se preparó la solución madre y posterior dilución 1/1.000, el medio de cultivo fue agar malta (AM) acidificada.

El medio P (PONCHET *et al.*, 1972) ha sido el utilizado para determinar y aislar

Pythium y *Phytophthora*, previa utilización de «trampas» que en este caso han sido pétalos de clavel suspendidos en una pequeña porción de suelo con agua destilada.

Estos tres métodos han sido detallados por TELLO y LACASA (1991) en el Manual de laboratorio en su capítulo 3.

Aislamientos e identificación de hongos de judías secas

Presuponíamos que estábamos ante una enfermedad en la que intervenían distintos hongos, por tanto, era muy importante el utilizar las técnicas adecuadas para la detección de cada uno de los micetos del tallo y las raíces. Por ello, las muestras después de lavadas en agua del grifo se han tratado como a continuación se expone:

- Se secaron en papel de filtro y se sembraron en caldo de patata agarizado (PDA), incubando durante seis días en estufa y oscuridad a 24 °C.
- Siembra de partes afectadas en medio P para la detección de *Pythium* y *Phytophthora*.
- Observación bajo lupa para detectar la presencia de *Thielaviopsis basicola*.

Aislamientos e identificación de hongos en judías desarrolladas normalmente en el invernadero

En este caso, los daños afectaban a diversas partes aéreas de las judías. Para su aislamiento, las partes enfermas se sembraron en PDA según el apartado anterior.

Criterios taxonómicos utilizados

La identificación de los hongos del género *Fusarium* se hizo de acuerdo a los criterios expresados por MESSIAEN y CASINI (1968) y NELSON *et al.*, (1983).

Los micromicetos componentes de la micoflora total se han identificado siguiendo los siguientes manuales: ARX (1974), BARNETT y HUNTER (1972), ELLIS (1971).

El reconocimiento de *Rhizoctonia solani*, teniendo en cuenta las orientaciones de SNEH *et al.*, (1991).

Inoculaciones

Los aislamientos de las plantas enfermas, se purificaron y se dejaron crecer en medio PDA hasta que cubrían toda la superficie de una placa de Petri de 9 cm. El inóculo se obtuvo triturando el contenido de una placa con 100 ml de agua estéril. El sustrato estaba formado por una mezcla en volumen de mantillo, arena y tierra (1:1:1) esterilizado en autoclave a 120 °C durante 60 minutos dos días consecutivos. Las inoculaciones se hicieron en maceta utilizando dos aislamientos de cada uno de los invernaderos I1, I5, I6, I7 e I8. El número de semillas sembradas en cada maceta fue de cinco, lo que suponía un total de 50 plantas en cada prueba. La variedad inoculada fue «Femira», del mismo lote que las utilizadas por los horticultores de la zona. El triturado del inóculo se aplicó al sustrato una vez sembradas las judías.

Las plantas inoculadas se mantuvieron durante 50 días que duró el experimento en cámara climatizada. Fotoperíodo de 2.500-3.000 lux durante 14h/día. Las temperaturas oscilaron entre 16 °C (10h/día) a 25 °C (14h/día). Las macetas se regaban dos días por semana.

Los reaislamientos se hicieron sobre PDA una vez lavadas al grifo las plantas y secadas las raíces en papel de filtro.

RESULTADOS

Análisis de laboratorio

Los resultados de los análisis de suelos se presentan en el Cuadro 1 y en el Cuadro 2, complementado por el Cuadro 3. La presencia de *Fusarium oxysporum* es abundante en todos los suelos, destacando el invernadero I1 con el 48 % del total. Por lo general, la menor densidad de *F. oxysporum* corresponde a los invernaderos que habían sido trata-

Cuadro 1.—Flora fusárica en muestras de suelos de ocho invernaderos (en propagulos/g de tierra seca)

Código de muestra	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Fusarium spp.</i>
I1	360 ± 29	162 ± 19	4 ± 0,82	91 ± 19
I2	129 ± 25	194 ± 32	220 ± 39	142 ± 49
I3	21 ± 4	26 ± 15	86 ± 15	17 ± 7
I4	13 ± 2	122 ± 26	207 ± 114	13 ± 5
I5	26 ± 4	173 ± 17	—	100 ± 29
I6	68 ± 13	363 ± 28	102 ± 15	29 ± 7
I7	120 ± 10	147 ± 23	—	33 ± 12
I8	98 ± 4	156 ± 20	292 ± 77	21 ± 5

Cuadro 2.—Micoflora total de las muestras de suelos de ocho invernaderos (en propagulos/g tierra × 10³)

Género	Código							
	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7	I8
<i>Alternaria</i>	4	2	—	1	3	2	3	—
<i>Aspergillus</i>	171	19	93	46	141	100	303	130
<i>Botrytis</i>	—	—	3	—	—	—	5	2
<i>Cladosporium</i>	4	76	3	2	32	15	113	22
<i>Curvularia</i>	—	—	—	—	—	—	3	—
<i>Epicoccum</i>	—	—	—	—	—	2	1	—
<i>Glocladium</i>	—	—	—	—	3	—	—	—
<i>Penicillium</i>	73	157	19	16	99	217	102	42
<i>Rhizoctonia</i>	—	—	—	—	—	2	—	1
<i>Rhizopus</i>	3	—	2	—	16	8	1	24
<i>Sclerotinia</i>	—	—	—	—	1	—	—	—
<i>Stemphylium</i>	3	—	—	1	1	1	2	1
<i>Trichoderma</i>	—	—	—	—	—	6	—	—
<i>Verticillium</i>	—	—	—	—	—	1	—	2
No identificados	3	5	1	1	3	7	1	3

Cuadro 3.—*Pythium* y *Phytophthora* en muestras de suelo (S) y raíces (R) (10 plantas por invernadero)

Género	Código															
	I1		I2		I3		I4		I5		I6		I7		I8	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
<i>Pythium</i>	+	10	+	8	—	3	+	8	+	8	+	10	+	10	+	9
<i>Phytophthora</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—

dos con bromuro de metilo ese mismo año, a excepción de I5.

Debemos destacar la presencia de *Fusarium solani* en todos los suelos y con densidades muy altas en todos ellos, a excepción del I3. A pesar de haber sido tratados con bromuro de metilo, en la fecha de recogida de muestras los suelos de I4 e I6 habían alcanzado niveles de inóculo iguales o superiores a los no tratados. Las altas densidades de estas dos especies de *Fusarium* pueden tener incidencia sobre determinados cultivos, bien de forma directa o bien de forma indirecta.

Requiere un comentario especial los resultados del Cuadro 1. En él se puede observar resultados dispares en cuanto a *Fusarium moniliforme* que a nuestro parecer tiene fácil explicación. Como se puede observar, no existe correlación con los suelos tratados o no con bromuro de metilo, lógicamente el aporte de estiercol es posterior al tratamiento. Sin embargo, sí aparece una correlación clara con el tipo de estiercol aportado en cada caso, correspondiendo las mayores densidades de inóculo a los suelos con estiercol de oveja y los menores al de vaca, no apareciendo en los suelos que no habían sido estercolados ese año. Si lo expuesto parece evidente, no es menos cierto que en suelos sin estiercol también se ha encontrado *F. moniliforme*. Estos resultados fueron concordantes con los de TELLO (1990) de cuya publicación extraemos la siguiente frase: «Parece inexplicable como una especie como *F. moniliforme*, carente de clamidosporas, puede aparecer tan ampliamente

representada in vitro en un medio aparentemente tan inhóspito, como el plástico de la techumbre del invernadero».

La micoflora no fusárica Cuadro 2, está compuesta por hongos comunmente aislados en suelos de hortícolas. Llamamos la atención por su baja frecuencia *Rhizoctonia*, *Sclerotinia* y *Verticillium*. El primero se ha aislado en cinco invernaderos en plantas enfermas, en cambio, en micoflora total sólo aparece en el suelo del invernadero I6. Esto no debe extrañarnos por que a pesar de denominarse «Micoflora Total», este tipo de hongos no suele aparecer aunque estén presentes.

Los análisis de los mismos suelos en medios diferentes, arrojan resultados diferentes. En nuestro caso, las tasas de aislamientos de *Fusarium* era menor en medio (AM) que en medio K, esta diferencia no era tan patente para *F. oxysporum*. Por todo lo expuesto, la flora fusárica queda representada en el Cuadro 1, mientras en el Cuadro 2, dicha flora fusárica queda englobada dentro del grupo de los no identificados.

El Cuadro 3 informa sobre la aparición positiva o negativa de *Pythium* y *Phytophthora* en los suelos y las raíces. Se ha obtenido resultado positivo para *Pythium* en todos los análisis de suelos y en la mayoría de plantas. El género *Phytophthora* sólo ha sido identificado en el suelo I7, en cambio, no ha sido aislado en las muestras de raíces de dicho invernadero.

Los resultados de los análisis de las plantas de judías secas se esquematiza en el Cuadro 4, en el cual se puede apreciar una

Cuadro 4.—Micoflora aislada en raíces de judía
(10 plantas por invernadero)

Género	Código							
	I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7	I8
<i>Fusarium oxysporum</i>	10	8	7	6	3	10	10	7
<i>Fusarium solani</i>	9	10	6	10	7	10	8	10
<i>Rhizoctonia solani</i>	2	—	—	—	2	4	3	2
<i>Sclerotinia</i>	—	—	—	1	—	—	—	—
<i>Alternaria</i>	—	—	1	—	—	1	—	—

asociación constante de *F. oxysporum* y *F. solani* en todos los invernaderos y en la mayoría de las plantas secas. Asociación triple de *F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani*, sólo aparece en las plantas de los invernaderos I1, I5, I6, I7 e I8 y en un 20 a 40 % de las plantas analizadas. Estas frecuencias de *R. solani* en plantas es superior a la obtenida en muestras de suelo, lo que evidencia una gran dificultad de aislamiento de los suelos.

Nosotros en este trabajo no hemos logrado identificar *Thielaviopsis basicola* ni en suelo ni en plantas. Se ha intentado identificar el micromiceto por observación directa a la lupa de las raíces de las plantas secas y por técnicas más sofisticadas (TELLO, com. per. 1991), utilizando discos de zanahoria en cámara húmeda. En ambos casos, los resultados han sido negativos.

En los análisis de la parte aérea de las plantas que permanecían vivas en los invernaderos, se aislaron *Botrytis* y *Sclerotinia* en todos ellos.

Inoculaciones y reaislamiento

Se recoge en el Cuadro 5. En la primera columna se indica el número de semillas que no emergieron, observándose un fallo en los testigos. La segunda columna refleja las incidencias ocurridas en las plantas emergidas, y en la tercera columna aparece el número de plantas perennes al final del experimento.

Los análisis para identificar los hongos de las plantas muertas y perennes se hicieron en PDA.

En los análisis de las plantas muertas inoculadas con *F. oxysporum* sólo apareció *F. oxysporum*. Lo mismo ocurrió en los casos con *F. solani* y *R. solani*. En las inoculaciones IFO + IFs + IRs aparecieron los tres hongos, aunque las placas aparecían invadidas por *R. solani*, las colonias de *F. oxysporum* y *F. solani* en algunos casos resultaba difícil identificarlas.

Las plantas de la columna tercera fueron analizadas individualmente, en cada planta fueron aislados los hongos que habían sido inoculados. En las plantas con inoculaciones combinadas con *R. solani*, se repitieron los resultados del apartado anterior.

En las plantas testigo no aparecieron ningún tipo de hongos.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Uno de los hongos que apareció con mayor frecuencia asociado a la enfermedad de las judías fue *F. oxysporum*. Sin embargo, cuando se inoculó en el experimento, el número de plantas no emergidas fue muy bajo (4 %), muy similar a los testigos. Las plantas se desarrollaron con normalidad y no se observaron daños en hipocótilo y raíces. El papel parasitario de *F. oxysporum* sobre judías no parece tener incidencia en este trabajo, pudiéndose considerar como

Cuadro 5.—Plantas enfermas 50 días después de inocular con *Fusarium solani* (IFs), *Fusarium oxysporum* (IFo) y *Rhizoctonia solani* (IRs)

Código de muestra	Semillas no emergidas	Plantas muertas	Plantas con síntomas
IFs	8	1	41
IFo	2	—	—
IRs	10	12	28
IFs + IFo	5	—	45
IFs + IFo + IRs	9	11	30
Testigos	1	—	—



Fig. 1.—Plantas de judías a los 50 días de inocular con *Fusarium oxysporum*.



Fig. 2.—Plantas de judías con necrosis superficiales en hipocótilo a los 50 días de inocular con *Fusarium solani*.



Fig. 3.—Muestra plantas muertas a los 20 días de inocular con *Rhizoctonia solani*.



Fig. 4.—Plantas de judías con necrosis profundas en hipocótilo a los 50 días de inocular con *Rhizoctonia solani*.

invasores secundarios de las lesiones debidas a otros hongos. Estos resultados contrastan con lo expuesto por otros autores (TUSET, 1973; PASTOR-CORRALES y ABOWI, 1987), si bien estos últimos autores atribuyen la alta



Fig. 5.—Muestra plantas muertas a los 20 días de inocular con *R. solani* + *F. solani* + *F. oxysporum*.

patogenicidad de esta especie a la forma de inocular y a la densidad de inóculo.

Las inoculaciones con *F. solani* muestran un 16 % de semillas no emergidas y una planta muerta durante todo el experimento. Este porcentaje de muertes en preemergencia es bastante aproximado a los obtenidos por AL-TAYEB. (1986) en sus experimentos de protección de judías con fungicidas, y algo inferior al obtenido por TELLO, LACASA y MOLINA (1985) en su experimento con la variedad Asperona semilarga. En el 82 % de plantas restantes se anotaron podredumbres de hipocótilo y radicular superficiales.

El desarrollo normal de las judías inoculadas con *F. solani*, no hacía presagiar podredumbres graves en la parte subterránea, comprobándose, además, un desarrollo de la cabellera radicular que en algunos casos era superior al de las plantas testigo. Las revisiones bibliográficas citan estas paradojas, así, TELLO, LACASA y MOLINA (1985) daban resultados, en ciertas variedades inoculadas con *F. solani*, en los cuales, las plantas con podredumbres pesaban más que los testigos. FORD *et al.*, (1990) demostraban que *F. solani* f.sp. *phaseoli* era altamente patógeno para hipocótilo y raíces de judía, comprobando que la infección habitualmente, aun-

que no siempre, ocurría cuando el sistema radicular estaba bajo estrés.

En la combinación de *F. solani* y *F. oxysporum* el porcentaje de muertes en preemergencia es menor que en el caso anterior, lo que podría interpretarse como una relación de antagonismo. En cuanto a la valoración de la podredumbre, nos ha sido difícil cuantificar en relación a los resultados con *F. solani* sólo.

Si bien en *F. oxysporum* se encuentra descrita la forma especializada *phaseoli*, en *F. solani* esta especialización no está clara, las formas especializadas de guisante y judía son capaces de infección cruzada. Nosotros en este trabajo no hemos comprobado este tipo de infección cruzada.

Las inoculaciones con *R. solani* muestran el porcentaje más alto de semillas no emergidas: 20 % y un 24 % de plantas muertas durante todo el experimento, aunque el mayor porcentaje de muertes se producían los veinte primeros días de la nascencia. De forma generalizada, con mayor o menor extensión y con mayor o menor profundidad, todas las plantas que permanecían en pie, a los 50 días manifestaban las necrosis en hipocótilo y raíz. El desarrollo de todas las plantas inoculadas con *R. solani* era menor que el de las plantas testigo, así como, el desarrollo de las raíces.

Los resultados que damos aquí de las inoculaciones con *R. solani* son bastante coincidentes con los dados por otros autores. Los trabajos de HTAY y DONALD (1988) dan pérdidas del 20 al 30 % con relación a la producción de suelos no inoculados, mientras TELLO *et al.*, (1985) da una reducción de peso de plantas del 35 % verificado a los treinta días de inocular con *R. solani*. Este último autor, también da resultados contradictorios a éstos cuando inocula con *R. solani* la variedad Principado, obteniendo pesos de un 13 % superior al testigo. Parece como si las plantas fueran vigorizadas por el inóculo añadido al sustrato.

En las inoculaciones combinadas *R. solani* + *F. solani* + *F. oxysporum*, el número de semillas no emergidas es del 18 % y las

plantas que mueren durante el desarrollo es del 22 %. Estos resultados son similares a los producidos con *R. solani* sólo, lo que parece sugerir que *F. solani* y *F. oxysporum* no ejercen ningún efecto sobre la exteriorización del poder patógeno de *R. solani*.

A partir de lo expuesto aquí y del resumen de los trabajos dedicados al secado o podredumbre de la judía, en especial los llevados a cabo en España (BERRA *et al.*, 1989.; TELLO *et al.*, 1985), se observa que en todos los aislamientos aparecen las asociaciones de *F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani*, y en cada trabajo aparecen una serie de hongos diferenciados en cada zona de cultivo de

judía. Una respuesta común en todos ellos, salvo raras excepciones, es la alta frecuencia de muertes de plantas de judías frente al inóculo de *R. solani*, baja frecuencia o nula de plantas muertas frente al inóculo de *F. solani* aunque si aparecen podredumbres, y efectos bajos o nulos en las inoculaciones con *F. oxysporum*.

El ataque a la parte aérea por *Botrytis cinerea* y en algunos casos *Sclerotinia sclerotiorum* es generalizado en todos los invernaderos, aunque los horticultores no lo dan mucha importancia debido al buen control que de los mismos hacen a base de fungicidas Carboximídicos.

ABSTRACT

SINOBAS, J.; IGLESIAS, C. y GARCÍA, A., 1994: Prospect of the fungus diseases at the Villa del Prado greenhouses (Madrid) and their incidence in the growing of peas (*Phaseolus vulgaris* L.). *Bol. San. Veg. Plagas*, 20(4): 889-898.

The study of the fungus diseases at the Villa del Prado greenhouses (Madrid), aims to contribute to the making up of a bean disease list in the country.

The soil microbiological analysis at 8 greenhouses in the area as well as those of dry bean stalks were started in September, 1991. The dry stalk isolated fungus were inoculated in beans in a climatic chamber at a temperature of 25 °C (14 h/day) and 16 °C (10 h/day) for 50 days. The luminosity ranged from 2,500 to 3,000 lux.

The results of the mycoflora associated with roots and rhizosphere were as follows: *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium* spp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Epicoccum* sp., *Gliocladium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus* sp., *Sclerotia sclerotiorum*, *Stemphylium* sp., *Trichoderma* sp., *Verticillium* sp., *Pythium* sp., *Phytophthora* sp.

The most frequent groups found in the fungi of the ill bean were *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*.

When beans were inoculated (cv. Femira) with *F. solani*, 16 % of the seeds did not emerge. The remaining 82 % showed superficial white root and hypocotyl rot, although the plants reached normal development. Symptoms of attacking the plants were not observed in the inoculations with *F. oxysporum*, although the number of non-emerged seeds in the combination of *F. solani* + *F. oxysporum* was inferior to that of the combination with *F. solani*. This suggests a kind of antagonism between pathogens. The number of both non-emerged and dead plants in the inoculations with *Rhizoctonia solani* was 20 and 24 % respectively. In the rest of the seeds, deep white root and hypocotyl rot was also observed as well as a poorer development of the plants. The results in the combined inoculations *R. solani* + *F. solani* + *F. oxysporum* were similar to the ones produced with those combinations with only *R. solani*. This seems to suggest that *F. solani* and *F. oxysporum* do not have any effect on the manifestation of the *R. solani* pathogen power.

Key Words: Fungus disease prospect, beans, greenhouse, Villa del Prado (Madrid).

REFERENCIAS

- ARX, VON J. A., 1974: *The genera of fungi sporulating in pure culture*. J. Cramer, lengershausen, germany: 315 pp.
- BARNETT, H. L. y HUNTER, B. B., 1972: *Illustrated genera of imperfect fungi*. Burgess publishing company. Minnespolis, minnesota: 241 pp.
- BERRA, D. y ARTEAGA, G., 1989: El complejo parasitario del pie de la judía en el país vasco. *Cuadernos de fitopatología*, 2.º trimestre: 53-57.
- EL-TAYEB, A. A. M., 1986: The control of *Fusarium solani* f. *Sp. phaseoli* by fungicide mixtures. *Phytopatology*, **117**: 173-180.
- ELLIS, M. B., 1971: *Dematiaceous hyphomycetes*. Commonwealth mycological institute. Kew, surrey, england: 608 pp.
- FORD, M. M.; GENE, R. S. y KAREN, L. K., 1990: Association of *Fusarium solani* f. *sp. Phaseoli* with trichomes of *Phaseolus vulgaris*. *Mycological research*, **94**(3): 409-411.
- HTAY, H. W. y DONALD, R. S., 1988: Root rot induced in snap bean by *Rhizoctonia solani* ag-4 and ag-2 type 2 in conservation tillage following corn. *Plant disease*, **72**: 1.049- 1.053.
- KOMADA, H., 1975: Development of selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Review of plant protection research*, **8**: 114-125.
- MESSIAEN, C. M. y CASINI, R., 1968: Recherches sur les fusarioses iv. La systematique des *Fusarium*. *Ann. Epiphyties*, **19**: 387-454.
- NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A. y MARASAS, W. F. O., 1983: *Fusarium species. An illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State University Press.
- PASTOR-CORRALES, M. A. y ABAWI, G. S., 1987: Reactions of selected bean germ plasms to infection by *Fusarium oxysporum* f. *sp. Phaseoli*. *Plant disease*, **71**: 990-993.
- PONCHET, J.; RICCI, P.; ANDREOLI, C. y AUGÉ, G., 1972: Methodes selectives d'isolement du *Phytophthora nicotianae* f. *sp. parasitica* (Dastur) Waterh. A partir du sol. *Ann. Phytopathol*, **4**: 97-108.
- SNEH, B.; BURPEE, L. y OGOSHI, A., 1991: *Identification of Rhizoctonia species*. The american phytopathological society. St . Paul, Minnesota. U.S.A.
- TELLO-MARQUINA, J. C.; LACASA, A. y MOLINA, R., 1985: Una nota fitopatologica sobre el complejo parasitario del pie de la judía (*Phaseolus vulgaris*. L.). *Itea*, **61**: 57-69.
- TELLO-MARQUINA, J. C. y LACASA, A., 1991: *Manual de laboratorio*. Capítulo 3. Publicaciones del Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentacion.
- TUSET, J. J., 1973: Estudios sobre la marchitez y secado de plantas herbaceas. I. Un fusarium patógeno de la judía en levante. *Ann. Inia. Ser. Prot. Veg.*, **3**: 73-93.

(Aceptado para su publicación: 13 Octubre 1993)