EVALUACIÓN DE FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DEL COMPLEJO FUNGOSO *Drechslera* spp., *Phoma* spp., *Sphacelia* sp., *Epiccocum* spp. *(Cerebella* spp.) EN INFLORESCENCIAS DE *Brachiaria brizantha* (Panicoideae, Poaceae)

Benjamín Pineda L[1], María del Socorro Balcázar[1] y Ángela Liliana Rivera C.[2]

[1] Laboratorio de Sanidad de Germoplasma , Unidad de Recursos Genéticos, CIAT;
[2] Convenio COLCIENCIAS-CIAT, Científicos jóvenes

RESUMEN

En el Banco de Germoplasma de la Unidad de Recursos Genéticos (URG) del CIAT más de 700 accesiones de *Brachiaria* spp. son conservadas en pequeñas cantidades de semilla; estas accesiones han sido obtenidas por donaciones de otros bancos, colecciones nacionales e internacionales o colectas en los sitios de origen. Debido a que las cantidades son muy bajas y se requiere una mayor disponibilidad de semillas para caracterización, conservación y distribución, es indispensable recurrir al incremento bajo condiciones de campo, con el riesgo inherente de deterioro o pérdida por la acción de plagas o patógenos. Para disminuir el efecto de estos factores adversos se realizó la presente investigación, utilizando fungicidas para el control de los hongos *Drechslera* spp., *Phoma* spp., *Sphacelia* sp., *Cerebella* spp., identificados como los más frecuentes afectando las inflorescencias en la estación de Santa Rosa (Popayán, Cauca), en donde se incrementa el germoplasma. Inicialmente se adelantaron ensayos *in vitro* con los productos Captan, Benomyl, Etrithiadizole + Thiophanate-methyl, Carboxin + Captan, Cobre metálico, Propiconazo, Mancozeb, Clorotalonil, Metalaxil+ Mancozeb en tres dosis. Los resultados obtenidos mostraron que Propiconazole, Mancozeb y Metalaxil + Mancozeb, fueron efectivos contra aislamientos de *Sphacelia* spp., *Drechslera* spp., *Phoma* spp y *Epiccocum* spp. obtenidos de semillas de *Brachiaria* spp. Experimentos conducidos en la estación de Santa Rosa bajo condiciones de campo, con Propiconazole asperjado periódicamente sobre parcelas cultivadas con 72 accesiones de *B. brizantha* en diferentes estados de desarrollo de las inflorescencias mostraron efectividad contra *Sphacelia* sp. cuando se aplicó en embuchamiento y en algunos casos en floración temprana. Las evaluaciones de Propiconazole, Mancozeb y Metalaxil + Mancozeb, aplicados quincenalmente en parcelas de la accesión de *B. brizantha* No CIAT 16322 a partir de embuchamiento no mostraron mayores diferencias pues los niveles de infección en general fueron muy bajos.

Palabras claves: Pasturas, semillas, control químico, producción

SUMMARY

More than 700 accesions of *Brachiaria* spp. are conserved in small quantities of seeds) in the Germoplasm Bank at CIAT's Genetic Resources Unit (GRU. These have been obtained by donations of other banks, collections of national and international seeds or collected in the sites of origin. As the seed quantities are very low and large quantities of seeds are required for characterization, conservation and distribution, it is indispensable to increase germplasm under field conditions, with the inherent risk of deterioration or loss by the action of pests and pathogens. In order to diminish the effect of these of unfavorable factors, this research was carried out, utilizing fungicides for the control of the fungi D*rechslera* spp., *Phoma* spp., *Sphacelia.* sp., *Cerebella* spp., identified as the more frequent fungi affecting the *Brachiaria* spp. inflorescences at the station of Santa Rosa (Popayán, Cauca), where the germplasm is increased. *In vitro* trials were conducted with Captan, Benomyl, Etrithiadizole+Thiophanate-methyl, Carboxin+Captan, Metallic Copper, Propiconazole, Mancozeb, Clorotalonil, Metalaxil+Mancozeb in three doses. The outputs showed that Propiconazole, Mancozeb and Metalaxil+Mancozeb, were effective against *Sphacelia* spp., *Drechslera* spp., *Phoma* spp. and *Epiccocum* spp., isolated from seeds of *Brachiaria* spp. Experiments carried out at the Santa Rosa station, under field conditions , with Propiconazole sprayed periodically on plots cultivated with 72 accesions of *B. brizantha*, and in several states of inflorescence development, showed effectiveness against *Sphacelia* sp. when it was sprayed at booting state and in some cases in early flowering. The evaluation of Propiconazole, Mancozeb, and Metalaxil+Mancozeb, applied every two weeks on plots of *B. brizantha* CIAT number 16322 starting from booting did not show notable differences, may be due at the levels of infection in the plots were very low.

Key words: Pastures, seeds, chemical control, seed production

INTRODUCCIÓN

La conservación *ex situ* de recursos genéticos de forrajes tropicales es la manera más apropiada de garantizar el acceso fácil a germoplasma con características conocidas. Los bancos de germoplasma de campo permiten la evaluación agronómica completa, pero pueden sufrir ataques de plagas y enfermedades que ponen en peligro la conservación de los materiales, cuando son afectados por patógenos que se transmiten de generación en generación por semilla y no son confiables para el intercambio de germoplasma en el ámbito nacional e internacional.

En el caso específico de *Brachiaria* spp., en la Unidad de Recursos Genéticos (URG) del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), más de 700 accesiones agrupadas en 27 especies se conservan en el Banco de Germoplasma, de las cuales alrededor del 50 % corresponden a *B. brizantha*. Este germoplasma fue introducido al banco mediante colectas en los sitios de origen o por donaciones de semillas de otros bancos o colecciones nacionales e internacionales. Las cantidades colectadas o recibidas son generalmente muy reducidas y han requerido incremento post-cuarentena bajo condiciones de campo, según los procedimientos establecidos en la URG (CIAT, 2001).

La producción de semilla en campo abierto presenta el riesgo inherente de que el germoplasma se pierda o deteriore al ser expuesto a diversos agentes ambientales o biológicos adversos. En el ámbito de los agentes biológicos, los patógenos, principalmente los de origen fungoso, son los mayores generadores de riesgo. Estos afectan la producción en cantidad y calidad de las semillas, disminuyen la viabilidad durante la conservación y utilización, y dificultan la distribución internacional, si son de importancia cuarentenaria.

Estudios realizados durante 1998 - 2001 en la estación de Santa Rosa (Popayán, Cauca) y en el Laboratorio de Sanidad de Germoplasma (URG, CIAT, Palmira) con el propósito de identificar las enfermedades

limitantes de la producción y calidad de la semilla, mostraron que en los lotes de incremento de germoplasma se registraban enfermedades que afectaban las inflorescencias de *Brachiaria* spp. tales como el mal de azúcar (*Sphacelia* spp.), el falso carbón (*Cerebella* spp., *Epiccocum* spp.) y otras afecciones; ocasionadas principalmente por los hongos *Drechslera* spp., *Phoma* spp., *Curvularia* spp., *Cladosporium* spp. y *Fusarium* spp. (García y Pineda 2000, García et al, 2001)

Los análisis de semillas realizados durante los estudios antes mencionados indicaron que hongos como *Drechslera* spp., *Curvularia* spp. y *Phoma* spp. prevalecían en las cariópsides aún después de escarificadas y removidas las brácteas. Pruebas de patogenicidad en plántulas con aislamientos de *Drechslera* spp. y *Phoma* spp. resultaron positivas según los postulados de Koch (Gonzáles, 1976), lo cual comprueba que dichos hongos son patógenos transmitidos por semilla, son de interés cuarentenario y afectan la calidad fitosanitaria del germoplasma.

Para el manejo del complejo de hongos se han hecho algunas aproximaciones al respecto utilizando casetas con cobertura plástica, similares a los utilizados exitosamente para la producción de semilla de fríjol. Sin embargo los resultados iniciales fueron poco prometedores dadas las características de crecimiento de *Brachiaria* spp. (Macollas estoloniferas y alta densidad de plantas); además del efecto de las condiciones de humedad, temperatura y precipitación de la estación de Santa Rosa (HR del 80%, temperaturas 16-24 ^{0}C, precipitación mayor de 2000 mm) que favorecen la alta incidencia de hongos, especialmente en los racimos florales.

Con base en los hallazgos del estudio se procedió a adelantar otras investigaciones tendientes a mejorar la producción y calidad de semilla, determinándose que *Sphacelia* sp. coloniza el ovario y no permite la formación de semillas, contamina las glumas pero en apariencia no coloniza los tejidos de aquellas semillas que logran completar su desarrollo y que simplemente infesta las glumas y las brácteas de manera que al hacer eliminación de estas estructuras se disminuyen los porcentajes de contaminación (García et al, 2001). Se observó además bajo condiciones de campo que, como resultado de la enfermedad mal de azúcar caracterizada por producir exudados azucarados, se incrementaba el desarrollo de hongos secundarios como *Cladosporium* spp., *Epiccocum* spp. y , *Fusarium* spp., entre otros (García y Pineda 2000, García et al, 2001) que contribuían a desmeritar la calidad del germoplasma semilla.

Teniendo en cuenta que el principal propósito de la Unidad de Recursos Genéticos es el de mejorar los esfuerzos en conservación para incrementar los beneficios sociales de las prácticas de conservación, mediante el logro de metas como hacer que el germoplasma de las colecciones cumpla con los estándares internacionales de viabilidad, cantidad y fitosanidad (FAO/IPGRI, 1994) para que este disponible a los usuarios, se continuaron las investigaciones dirigidas principalmente a encontrar alternativas de control de enfermedades.

Como en el mercado existen fungicidas de uso común para el control de algunos hongos registrados en el sitio de multiplicación de germoplasma semilla, se decidió adelantar investigaciones para identificar, inicialmente *in vitro,* productos promisorios contra dichos patógenos aplicables en el campo para disminuir su incidencia y hacer más eficiente la producción de semilla en rendimiento y fitosanidad.

Durante los estudios se evaluaron productos para:

- Controlar la presencia de *Sphacelia* como agente causal primario de la reducción en la producción de semilla, promotor de infecciones secundarias y probablemente también de hongos de importancia cuarentenaria
- Controlar hongos como *Drechslera* spp. y *Phoma* spp. considerados muy importantes por su trasmisión por semilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ensayos *in vitro*

Los ensayos se realizaron en el Laboratorio de Sanidad de Germoplasma (LSG) con el propósito de identificar fungicidas promisorios para el control de hongos de importancia cuarentenaria. Para los tratamientos se seleccionaron nueve productos comerciales utilizando tres dosis de cada uno de ellos (Tabla 1).

Las soluciones de los fungicidas se prepararon mezclando en agua las diferentes dosis del producto. Una vez obtenidas las soluciones homogenizadas se procedió a colocar en ellas discos de papel de filtro de 7mm de diámetro, previamente esterilizados, con el fin de impregnarlos con la preparación fungicida.

Se seleccionaron aislamientos de *Drechslera* spp., *Phoma* spp., *Sphacelia* spp., considerados como los hongos más importantes. Además se incluyeron otros como *Alternaria* spp., *Cerebella* spp., *Cladosporium* spp., *Curvularia* spp,. *Epicoccum* spp., y *Fusarium* spp. generalmente asociados a la mala calidad del germoplasma. Los aislamientos habían sido obtenidos de muestras de semillas de *Brachiaria* spp. producidas en los lotes de incremento de la estación Santa Rosa. Los aislamientos una vez purificados e identificados se incrementaron en platos de Petri conteniendo el medio de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar, Difco).

A partir de los cultivos de los hongos seleccionados se cortaron discos de 7 mm de diámetro y se colocaron en platos Petri con medio de cultivo, incubándolos en una cámara de crecimiento cuya temperatura era de 20-27 ^{0}C, luz blanca fría y cercana a ultravioleta con periodos de iluminación y oscuridad de 12 horas. Cuando las colonias alcanzaron un diámetro de 2 cm se procedió a colocar en forma equidistante alrededor de la colonia cuatro discos impregnados con fungicida y uno con agua destilada (Figura 1).

Tabla 1. Fungicidas seleccionados para evaluar *in vitro* su efecto contra hongos que afectan la calidad fitosanitaria del germoplasma semilla de *Brachiaria* spp.

	Fungicida	Nombre	Formulación	Dosis (g/L, cc/L)		
1	Captan	Orthocide	Polvo mojable	1,25	2,50	3,75
2	Benomyl	Benlate	Polvo mojable	0,28	0,56	0,84
3	Etrithiadizole + Thiophanate-methyl	Banrot	Polvo mojable	0,45	0,90	1,35
4	Carboxin + Captan	Vitavax 300	Polvo mojable	1,50	3,00	4,50
5	Cobre metálico	Kocide 101	Polvo mojable	2,50	3,00	4,50
6	Propiconazol	Tilt 250 EC	Concentrado emulsionable	1,00	1,50	2,00
7	Mancozeb	Manzate 200	Gránulos dispersables	12,50	15,00	18,00
8	Clorotalonil	Control 500	Suspensión concentrada	7,50	15,00	25,00
9	Metalaxil+ Mancozeb	Ridomil Gold MZ 68 WP	Polvo mojable	5,00	6,25	7,50

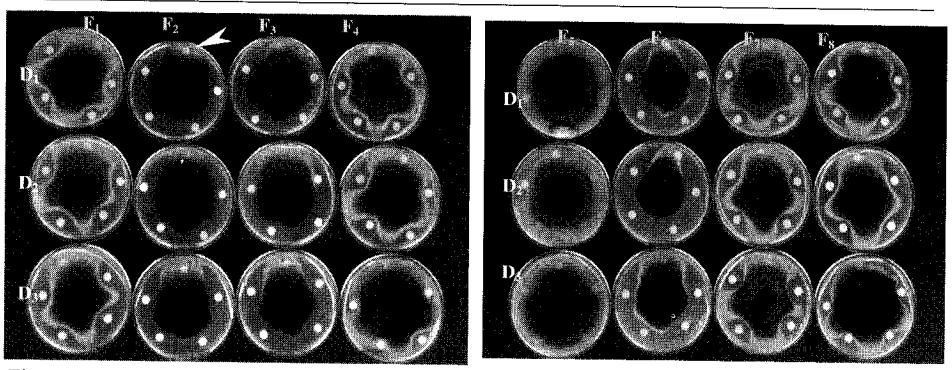

Figura 1. Diagrama que muestra la disposición de los distintos tratamientos utilizados para determinar el efecto *in vitro* de fungicidas sobre el crecimiento de aislamientos de hongos obtenidos de muestras de semillas de *Brachiaria brizantha.* La flecha blanca muestra la posición del disco impregnado con agua destilada utilizado como control absoluto en cada plato Petri.

Nuevamente los platos se colocaron en incubación y después de 5-6 días a se procedió hacer lecturas periódicas del ancho de la zona de inhibición del crecimiento de los diferentes hongos, según el producto y a la dosis utilizada. Se utilizaron dos repeticiones por tratamiento.

Evaluación de propiconazol

En el lote de incremento de *Brachiaria brizantha* en la estación Santa Rosa en donde se registraba la presencia de *Spha celia* sp. se seleccionaron completamente al azar 72 accesiones asi: seis en embuchamiento, 10 en floración temprana, 52 en floración plena y cuatro en maduración.

Teniendo en cuenta los resultados del estudio *in vitro* y considerando que el mayor problerma en el campo se iniciaba con el "mal de azúcar", se hicieron aspersiones de Propiconazol empleando 0, 6 L/ha utilizando una aspersora Agro Laura cada dos semanas, comenzando el 15 de noviembre de 2001. El progreso de la infección después de la aplicación del producto se realizó utilizando una escala de seis grados (Tabla 2). A las parcelas marcadas como testigos no se les aplicó el fungicida.

La cosecha de las inflorescencias se hizo periódicamente y después de cosechadas se tomaron muestras de semillas, se acondicionaron siguiendo los procedimientos estándar de la Unidad de Recursos Genéticos (Figura 2) y se procedió a determinar su estado fitosanitario. Se tomaron muestras de 100 semillas de cada accesión y se procedió a analizarlas utilizando dos métodos: el de enjuague de semillas y el de incubación en cámara húmeda (Neergard, 1977; Agarwal y Sinclair, 1987). La presencia o ausencia de estructuras reproductivas de los hongos se verificó mediante observaciones a las semillas utilizando un estereoscopio (Wild Heerbrugg) y/o un microscopio de luz (Nikon Eclipse, E 400).

La identificación de los géneros de hongos se realizó por comparación de las descripciones e ilustraciones de la literatura especializada (Barnett y Hunter, 1998; Zillinsky, 1983; Ahmed y Ravinder Reddy, 1993).

Evaluaciones de Mancozeb, Metalaxil+Mancozeb y Propiconazole

El experimento se realizó durante el primer semestre de 2002 (Febrero-Mayo), bajo condiciones de campo en la estación Santa Rosa, Popayán. Se seleccionó un lote de mutiplicación de semilla de *Brachiaria brizantha,* accesión CIAT 16322, la cual se encontraba en estado de embuchamiento y prefloración en el momento de iniciar el ensayo. Se marcaron parcelas de 6 m^2, distribuyendo completamente al azar los tratamientos. Se utilizaron los fungicidas Mancozeb, Metalaxil+Mancozeb y Propiconazol, cada uno con tres dosis (Tabla 3) y un testigo sin aplicación. Durante el proceso de formación de las semillas se realizaron cuatro aplicaciones quincenales de los productos.

Tabla 2. Escala de evaluación para establecer el progreso de la infección del complejo fungoso asociado con inflorescencias de *Brachiaria brizantha* después de las aspersiones con propiconazol.

Grado de infección	Descripción de síntomas
G0	Inflorescencias sin síntomas visibles
G1	Inflorescencias con exudados melosos incoloros o pardo amarillentos
G2	Inflorescencias con exudados melosos y escaso crecimientos polvoso de color blanco
G3	Inflorescencias con abundante crecimiento polvoso de color blanco solamente.
G4	Inflorescencias parcialmente recubiertas con crecimientos fungosos verdosos, rosados, y/o negros (*Cladosporium* spp.,, *Fusarium* spp., *Cerebella* spp)
G5	Inflorescencias totalmente recubiertas con crecimientos fungosos verdosos, rosados, y/o negros (*Cladosporium* spp.,, *Fusarium* spp., *Cerebella* spp)

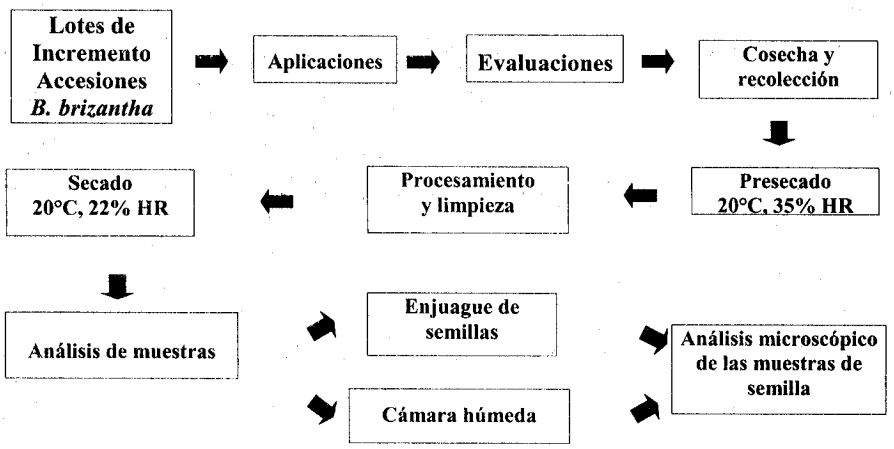

Figura 2. Diagrama de flujo sobre la metodología utilizada para la evaluación de la efectividad de la aplicación de fungicidas en el control de hogos que afectan inflorescencias de *Brachiaria brizantha*

Tabla 3. Fungicidas seleccionados para evaluar bajo condiciones de campo su efecto contra hongos que afectan la calidad fitosanitaria del germoplasma semilla de *Brachiaria* spp.

Tratamiento No	Nombre común	Producto comercial	Formulación	Dosis (Kg/ha, L/ha)
1	Mancozeb	Manzate 200	Granulos dispersables	5,0
2				6,1
3				7,2
4	Metalaxil +	Ridomil Gold MZ	Polvo mojable	2,0
5	Mancozeb	68 WP		2,5
6				3,0
7	Propiconazol	Tilt 250 EC	Concentrado emulsionable	0,38
8				0,61
9				0,77
10	Testigo			0,0

Se hicieron evaluaciones quincenales del progreso de la infección en cada una de las parcelas. Las cosechas tuvieron una diferencia de 15 días entre ellas.

Después de la cosecha, las muestras se colocaron en los costales durante cuatro días, al cabo de los cuales se procedió a sacudirlos con el fin de desprender la semilla de las inflorescencias y realizar el acondicionamiento de la semilla según los procedimientos establecidos por la URG.

Las pruebas de sanidad de las semillas se realizaron en el LSG según la metodología de cámara húmeda y enjuague de semillas antes mencionada.

Para la prueba de análisis de enjuagues 100 semillas sin escarificar de cada muestra se colocaron en tubos de ensayo con 10 mL de agua destilada estéril, se agitaron durante 2 minutos en un agitador Vortex (Vortex Genie-2, Scientific Industries) y luego fueron colocadas en reposo por 24 horas. Al culminar este tiempo, se tomó una muestra de 1 mL de la suspensión y se centrifugó a 3000 r.p.m durante 15 minutos. El sobrenadante se desechó y posteriormente el precipitado resupendido en agua destilada estéril se examinó a través del microscopio.

Las semillas después del enjuague se recuperaron del tubo de ensayo y se colocaron en cajas de Petri con papel toalla humedecido con 10 mL de agua destilada estéril. Luego se trasladaron al cuarto de incubación en donde permanecieron durante una semana a una temperatura de 20-27°C con iluminación suministrada por tubos fluorescentes de luz

blanca y tubos de luz azul–negra (320–400nm), con periodos de 12 horas luz y 12 horas oscuridad.

Transcurrido el periodo de incubación de las muestras se procedió a determinar la incidencia de cada uno de los patógenos presentes en las semillas de las accesiones evaluadas, utilizando el estereoscopio y microscopio. Las semillas fueron evaluadas una a una, determinando la presencia o ausencia de estructuras fungosas y realizando los conteos para la tabulación de los resultados.

La identificación y clasificación de los hongos encontrados se hizo según lo descrito en la evaluación de propiconazol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación *in vitro*

La evaluación *in vitro* mostró que Propiconazol fue el fungicida más efectivo contra *Sphacelia* sp., *Dreschlera*, y *Phoma* sp. (Figura 3), considerados como hongos de importancia cuarentenaria, además de que presentó algún efecto contra otros géneros de hongos probados durante la investigación (Tabla 4). No se observaron diferencias entre las tres dosis utilizadas.

Otros fungicidas como Captan (Orthocide), Carboxin + Captan (Vitavax 300) y Mancozeb (Manzate 200) mostraron buen efecto contra *Drechslera* sp.

Los productos Benomyl (Benlate); Etrithiadiazole+Thiophanate-methyl (Banrot) y Mancozeb (Manzate 200) produjeron inhibición en el crecimiento de *Phoma* sp.;Metalaxil + Mancozeb (Ridomil Gold

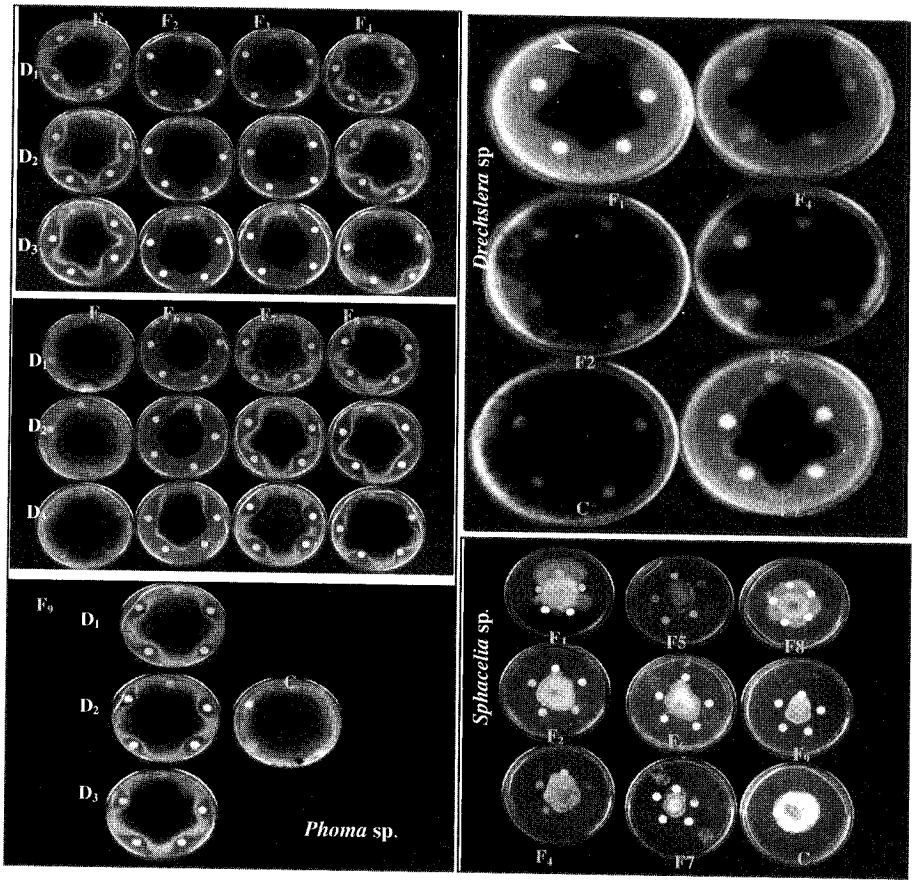

Figura 3. Efecto *in vitro* de los fungicidas sobre crecimientos de *Phoma* sp., *Drechslera* sp., y *Sphacelia* sp. Nótese el área de inhibición de crecimiento del hongo al rededor de los discos de papel de filtro impregnados con los productos. F_1 = Captan; F_2 = Benomyl; F_3 = Etrithiadizole + Thiophanate-methyl; F_4 = Carboxin + Captan ; F_5 = Cobre metálico; F_6 = Propiconazol; F_7 = Mancozeb; F_8= Clorotalonil; F_9 = Metalaxil+ Mancozeb ; C = Testigo; D_1, D_2, D^3 = Dosis (ver Tabla 1). La flecha blanca muestra la posición del disco impregnado con agua destilada utilizado como control absoluto en cada plato Petri.

Tabla 4 Efecto en in vitro de nueve fungicidas sobre nueve géneros de hongos que afectan la calidad fitosanitaria de germoplasma semilla de *Brachiaria* spp.

Producto	Géneros de hongos																	
	Alternaria		*Cerebella*		*Cladosporium*		*Curvularia*		*Drechslera**		*Epicoccum*		*Phoma**		*Fusarium*		*Sphacelia*	
	EF	ED	EF	ED	EF	ED	EF	ED	EF	ED	EF	ED	EF	ED	EF	ED	EF	ED
Captan	+++	no	+		+		++		++++	no	+		++		++		+++	no
Benomyl	(-)		++++	Si d_2,d_3	+++	Si d_2,d_3	(-)		+		++		+++	no	+++	no	+++	si d_2, d_3
Etrithiadizole + Thiophanate-methyl	(-)		(-)		+++	no	(-)		(-)		(-)		+++	no	+++	no	++	
Carboxin + Captan	+++	no	+++	no	+		+++	si d_2,d_3	++++	no	+		+		+		+++	Si, d_3
Cobre metálico	+++	no	++		(-)		++		++		+		+		+		+++	Si, d_3
Propiconazole	++++	no	++++	no	+++	no	++++	no	++++	no	+		+++ +	no	++++	no	+++	no
Mancozeb	+++	no	++++	no	++++	no	+++	no	++++	no	++++	no	+++	no	+++	no	+++	no
Clorotalonil	+	leve d_1	+		++		+		+		(-)		+		+		++	
Metalaxil+ Mancozeb	++	no	++++	no	+++	no	+++	no	++		++++	no	++		++		+++ +	no
Testigo	(-)		(-)		(-)		(-)		(-)		(-)		(-)		(-)		(-)	

EF = Efecto del fungicida; ED = Efecto diferencial de la dosis; (-) = sin efecto; + = efecto leve; ++++ = efecto fuerte

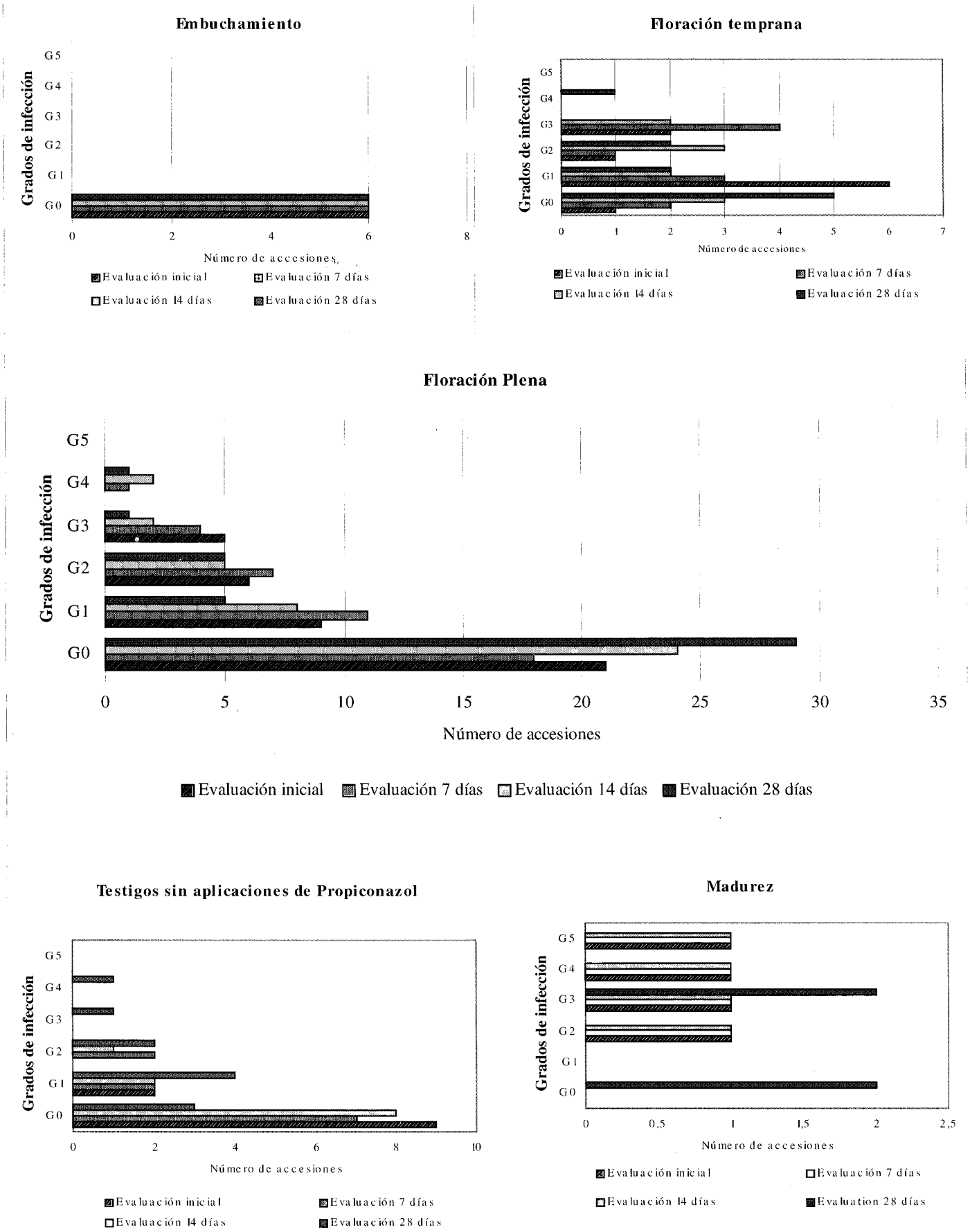

Figura 4. Progreso de la infección por el complejo de hongos asociados con inflorescencias de *Brachiaria brizantha* en diferentes estados de desarrollo después de las aspersiones con Propiconazol

MZ 68 WP) tuvo mayor efecto sobre el crecimiento de *Sphacelia* sp. que lo ocurrido con Captan, Benlate, Vitavax 300, hidróxido de cobre (Kocide) y Manzate 200.

El efecto de los fungicidas fue variable con relación a *Alternaria* sp., *Cerebella* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Epicoccum* sp., y *Fusarium* sp. Algunos productos inhibieron el crecimiento de uno o más hongos, mientras que otros como Chlorotalonil (Control 500 SC) tuvieron poco efecto. Algunos no afectaron el crecimiento de los hongos del estudio (Tabla 4).

Evaluación de propiconazol

Las evaluaciones bajo condiciones de campo relacionadas con el progreso de la infección del complejo de hongos asociados con las inflorescencias de *Brachiaria brizantha*, después de las aspersiones en diferentes estados de desarrollo mostraron que éste era variable (Figura 4). Cuando el fungicida se asperjó durante el estado de embuchamiento, la infección no mostró ningún progreso; todas las accesiones asperjadas no mostraron a simple vista infección fungosa. El progreso de la infección en las accesiones asperjadas durante la floración temprana, fue variable: el número de accesiones sin síntomas (G0) se incrementó al final de la evaluación. El número de accesiones con G1 disminuyó, con G2 se incrementó, y con G3 se incrementó para luego decrecer al momento de la evaluación final

La tendencia en las accesiones asperjadas en plena floración fue similar a la de las aplicaciones en floración temprana.

No se observaron mayores cambios en el progreso de la infección en las accesiones que se asperjaron en estado lechoso de maduración de la semilla (Figura 4). Las accesiones utilizadas como control sin aspersión de fungicida mostraron ligeros incrementos de infección.

Examinando en forma objetiva los resultados de la aplicación de propiconazole en embuchamiento (antes de que la inflorescencia se abra) se concluye que éstas previnieron las infecciones de *Sphacelia* sp. No así con las aplicaciones en los otros estados de desarrollo por cuanto en estos casos las inflorescencias ya habían abierto y por consiguiente la infección ya se había iniciado.

El análisis de las semillas obtenidas de las inflorescencias para determinar su estado fitosanitario después de las aspersiones con propiconazol mostraron que aquellas procedentes de inflorescencias asperjadas en época de embuchamiento no presentaron ataques de *Sphacelia* sp.. (Tabla 5), mientras que las obtenidas de inflorescencias asperjadas en floración temprana, plena floración o maduración presentaban mayor incidencia.

El efecto sobre el control de *Drechslera* spp, *Phoma* spp, *Curvularia* spp., *Cladosporium* spp., *Cerebella* spp y otros géneros fue bajo, pero se observó algo de control cuando las aspersiones se iniciaron en estado de embucha miento (Tabla 5).

Concluyendo, las aspersiones de propiconazol antes de iniciar floración resultaron efectivas para prevenir infecciones por *Sphacelia* sp.

efectúo un mes después de la última aplicación.

En las prueba de enjuague de semillas, *Sphacelia* spp. se presentó en tres tratamientos de semillas provenientes de parcelas que fueron tratadas con Mancozeb (Manzate 200)

Tabla 5. Incidencia del complejo fungoso presentada en el enjuague de semillas y cámara húmeda de semillas provenientes de parcelas de multiplicación de *Brachiaria brizantha* tratadas con Propiconazol.

Estado de Desarrollo (Número de accesiones)	*Sphacelia*	*Drechslera*	*Phoma*	*Curvularia*	*Cladosporium*	*Fusarium*	*Epiccocum*
Embuchamiento (6 Accesiones)	0	4	3	3		3	3
Floración baja (10 Accesiones)	2	10	10	8	1	6	4
Floración plena (41 Accesiones)	7	40	39	36	9	35	17
Maduración (4 Accesiones)	2	4	2	3	1	3	2
Testigos (11 Accesiones)	1	11	11	8	1	9	5

Evaluación de Mancozeb, Metalaxyl+ Mancozeb y Propiconazol

Los niveles de infección en las parcelas del estudio con la accesión CIAT 16322 fueron muy bajos, probablemente por la baja precipitación pluvial, situación que no permitió hacer una evaluación frecuente del progreso de la infección; sin embargo al momento de la cosecha se efectúo una lectura en donde se registro el grado de infección de las inflorescencias antes del beneficio (Tabla 6). Por otra parte se decidió hacer la cosecha en dos etapas para determinar si existían diferencias entre la época de cosecha con respecto a las infecciones fungosas.

Según la información obtenida (Tabla 6) no hubo diferencias entre los tratamientos en ambas cosechas y la presencia de síntomas visibles no superó el grado 3 de la escala de calificación. En los resultados obtenidos en la segunda cosecha se observa un ligero incremento en el daño causado por el complejo, probablemente debido a que la cosecha se en dosis baja y alta, al igual que Propiconazol (Tilt 250 EC) en dosis alta en la primera cosecha; en las observaciones realizadas para las muestras provenientes de la segunda cosecha no se detectaron conidias de este hongo. El género *Drechslera* se presentó en todos los tratamientos, indicativo de la capacidad de colonización del patógeno a pesar de la aplicación de fungicidas. *Curvularia* spp., uno de los hongos afin en sus efectos al *Drechslera* spp y frecuente en gramíneas (Neergard, 1977) se registró en algunos tratamientos de la primera cosecha y con mayor frecuencia para el caso de la segunda (Tabla 7).

Es de destacar que en las muestras recolectadas de la segunda cosecha se presentaron además de los hongos de importancia cuarentenaria otros patógenos como *Cladosporium* spp, *Epicoccumun* spp. *(Cerebella* spp.*) Fusarium* spp., y *Aspergillus* spp. considerados como secundarios, pero que suelen ocasionar deterioro en las semillas, probablemente debido a la supensión de las aplicaciones o a que hacia el final

Tabla 6. Grado de infección observado en el campo en parcelas de la accesión CIAT 16322 al momento de la cosecha despúes de la aplicación de los fungicidas.

Producto	**Dosis (kg.; L/ha)**	**Cosecha**	
		I	**II**
Mancozeb	5	2,3[1]	3,0
Mancozeb	6,1	2,0	2,3
Mancozeb	7,2	2,0	1,7
Metalaxyl + Mancozeb	2	2,3	2,3
Metalaxyl + Mancozeb	2,5	2,0	2,3
Metalaxyl + Mancozeb	3	2,0	2,7
Propiconazol	0,38	2,0	3,0
Propiconazol	0,61	2,0	3,0
Propiconazol	0,77	2,0	2,0
Testigo		2,0	2,7

[1]Los valores de daño se encuentran expresados en grado de severidad de 0 – 5, promedio de 3 repeticiones

Tabla 7. Porcentaje de hongos en muestras de semillas provenientes de parcelas de multiplicación de *Brachiaria brizantha* accesión 16322 tratadas con diferentes fungicidas

Producto	Dosis (kg.; L/ha)	*Sphacelia sp.*		*Drechslera spp.*		*Phoma sp.*		*Curvularia spp.*		*Fusarium spp.*		*Cladosporium spp.*		*Epiccocum spp.*		*Nigrospora sp.*		*Alternaria spp.*		*Chaetomium spp.*		*Aspergillus spp.*		*Pithomyces sp.*		*Rhizopus sp.*	
		I*	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Mancozeb	5	1	0	0	54	0	13	0	9	0	37	2		1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Mancozeb	6,1	1	0	0	64	1	4	0	12	0	2	2		4	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	
Mancozeb	7,2	1	0	4	63	0	7	0	11	0	4	0		6	0	0	0	5	0	0	3	0	0	0	
Metalaxyl + Mancozeb	2,0	0	0	0	69	0	3	1	5	0	23	0		0	0	3	0	0	8	0	3	2	0	0	
Metalaxyl + Mancozeb	2,5	0	0	0	46	0	4	2	9	0	6	4		2	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	
Metalaxyl + Mancozeb	3,0	0	0	0	63	0	7	0	16	0	3	0		5	0	0	0	0	2	0	5	0	0	0	
Propiconazol	0,38	0	0	0	71	0	5	1	8	0	37	2		5	0	0	0	1	0	3	1	0	0	0	
Propiconazol	0,61	0	0	0	69	0	12	0	0	0	48	0		2	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	
Propiconazole	0, 77	0	0	0	88	0	4	0	13	0	5	0		1	0	0	0	0	0	1	5	0	0	0	
Testigo		0	0	0	53	0	7	1	4	0	3	0		3	0	1	0	0	0	0	5	0	0	0	

* Número de Cosecha

del ciclo se presentaron condiciones ambientales favorables para el desarrollo de los hongos mencionados.

El testigo no presentó diferencias con los tratamientos, pero se pudo observar que hubo una alta presencia de los géneros *Drechslera*, *Phoma*, *Curvularia*, principalmente en las muestras provenientes de la segunda cosecha, especialmente el genero *Drechslera* que se presentó afectando una alta cantidad de semillas (Tabla 7).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos *in vitro* mostraron que Propiconazole, Mancozeb y Metalaxil +Mancozeb, fueron efectivos contra aislamientos de *Sphacelia* spp, *Drechslera, Phoma* spp y *Epiccocum* spp. obtenidos de semillas de *Brachiaria* sp.

Los experimentos bajo condiciones de campo con Propiconazole mostraron efectividad contra *Sphacelia* sp. cuando se aplicó en embuchamiento y en algunos casos en floración temprana.

Las evaluaciones de Propiconazole, Mancozeb y Metalaxil+Mancozeb, aplicados cada dos semanas a partir de embuchamiento no mostraron mayores diferencias pues los niveles de infección durante el experimento fueron bajos

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) y al MADR por el apoyo financiero, al Dr. Fernando Correa-V por la revisión del manuscrito y las sugerencias para su mejora, al Dr. Daniel Debouck por animarnos a emprender el estudio y facilitar los recursos necesarios para el mismo, así como por sus valiosos comentarios para la elaboración de este documento. A José Luis Ramírez, Luz Edith Tabarez, Arsenio Ciprian, Edwin Rivera, Luis Enrique Borrero su colaboración y ayuda.. Al Dr John Miles por facilitarnos el uso del lote con la accesion 16322.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agarwal , K, V y Sinclair, B. 1987. Principles of seed pathology (Vol II). CRC,Press. Boca Raton, Florida. p 34-37

Amhed, K. M. y Ravinder Reddy, CH. 1993. A Pictorial Guide to the Identification of Seedborne fungi of Sorghum, Pearl Millet, Finger Millet, Chickpea, Pigeonpea and Groundnut. ICRISAT Information bulletin No 34. 192 pp

Barnett, H.L & Hunter, B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. The American Phytopathological Society. APS Press.. St. Paul Minnesota. USA. 218pp

CIAT. 2001. Genetic Resources Unit.. Annual Report 2001. CIAT Project on Saving Biodiversity SB-01. Genetic Resources Unit. Report on Achievements and Progreses.

FAO/IPGRI. 1994. Normas para Bancos de Genes. 49pp

García, S. X. y Pineda, B. 2000. Reconocimiento de enfermedades fungosas transmitidas por semillas en germoplasma de *Brachiaria* spp. Fitopatología Colombiana 24(2): 39-46.

García, S. X., Pineda, B. y Salazar, S. M. 2001. Presencia de la enfermedad del mal de azúcar (*Sphacelia* spp) en tres especies del pasto *Brachiaria* (Panicoideae, Poaceae). Fitopatología Colombiana 25 (2): 1-8.

González, C.1976. Introducción a la fitopatología. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. San José de Costa Rica. p 12

Neergard, P. 1977. Seed Pathology. Halted Press, a division of John Wiley and Sons, Inc, New York .p 738-754

Zillinksky, F.J. 1983. Common diseases of small grain cereals. A guide to identification. Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Sorgo. CIMMYT. 141.

Reprinted with permission from Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines ASCOLFI. Originally published in Fitopatología Colombiana 26(1-2): 13-19, Copyright 2002.