

# Translocación de fungicidas sistémicos en maravilla (*Helianthus annuus* L.) y su acción sobre *Sclerotinia* *sclerotiorum* (Lib.) de Bary.<sup>1</sup>

Rina Acuña P.<sup>2</sup>, Bernardo Latorre G.<sup>3</sup> y Lautaro Cancino E.<sup>4</sup>

## INTRODUCCION

El descubrimiento de los fungicidas sistémicos ha permitido nuevas posibilidades en el control de numerosas enfermedades, particularmente en aquellas de tipo vascular. Tanto la forma de penetración y la translocación de estos fungicidas, como también su modo de acción en las plantas no son aún totalmente conocidos y constituyen por lo tanto, el objetivo de numerosas investigaciones.

De acuerdo con Taylor (1970) un fungicida sistémico corresponde a un compuesto químico fácilmente absorbido y translocado en las plantas de modo tal que ejercen su acción tanto en el lugar de aplicación como a distancia de él.

La efectividad de tales compuestos está primeramente relacionada con sus propiedades fungitóxicas y secundariamente con el grado de absorción y persistencia en la planta. La persistencia debe ser suficientemente prolongada de modo que el producto no se inactive antes de llegar al sitio de la infección y permita además reducir la frecuencia de los trata-

mientos de tal forma que resulte económica y práctica su aplicación.

Para determinar la acción sistémica de un fungicida en las plantas, se han utilizado diversos métodos, los que fundamentalmente corresponden a dos técnicas. La primera se refiere a estudios biológicos de laboratorio, y la segunda, consiste en la determinación de la actividad sistémica, mediante el empleo de moléculas radioactivadas.

De las técnicas biológicas conocidas, la prueba de difusión en agar es la más ampliamente utilizada (Wain y Carter, 1967) y ha sido empleada con éxito en el estudio de la actividad sistémica de numerosos fungicidas. Erwin *et al.* (1971) y Buchenauer y Erwin (1971), determinaron la translocación ascendente de Benlate y tiabendazol, ingrediente activo de Tecto 40, en plantas de algodón. Auger y Nome (1970b) obtuvieron excelentes resultados en estudios similares con Benlate en plantas de maravilla.

Biológicamente ha sido verificada la absorción radicular y el movimiento ascendente de CELA W524 en centeno (Schicke y Veen, 1969). Estos resultados han sido biológica y/o químicamente corroborados a través de los resultados obtenidos por Ebenebe *et al.* (1971) y Ost *et al.* (1971).

Finalmente, la translocación ascendente de Cercobin M, se ha determinado mediante el empleo de técnicas biológicas; de este modo, Hardison (1971), estableció la actividad sistémica de este compuesto en *Poa pratensis*. De acuerdo con la información proporciona-

<sup>1</sup>Parte de la Tesis presentada a la Escuela de Agronomía de la Universidad de Chile por Rina Acuña P., como uno de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

Recepción originales: 29 de octubre de 1973.

<sup>2</sup>Ing. Agr. Ministerio de Agricultura, Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), Casilla 4647, Correo 2, Santiago, Chile.

<sup>3</sup>Ing. Agr., M.S., Profesor Auxiliar Fitopatología General, Depto. Sanidad Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile.

<sup>4</sup>Ing. Agr., M.S., Profesor Fitopatología General, Depto. Sanidad Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile.

Cuadro 1 — Dosis; estado vegetativo de la planta al momento del muestreo y presencia de fungicida en la raíz o tallo, 15-25-35-45-55-70 días después de la aplicación al suelo y siembra.

Días des- de la apli- cación al suelo	Estado vegeta- tivo	F U N G I C I D A S											
		BENLATE (400ppm)*		EL-273 (50ppm)*		SCLEX (200ppm)*		CERCOBIN M (400ppm)*		CELA W524 (400ppm)*		TECTO 40 (200ppm)*	
		raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo	raíz	tallo
15	primer par hojas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	2-3 pares hojas	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
35	4-5 pares hojas	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-
45	comienzos de botón	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
55	botón	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
70	flor fe- cundada	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-

\*Ingrediente activo.

+Presencia evidente del fungicida.

-Ausencia del fungicida.

da por los fabricantes, EL-273 es rápidamente absorbido por las raíces y transportado en forma ascendente. Características similares presenta Sclex.

El presente trabajo tuvo por objetivo determinar las características de la translocación de algunos fungicidas sistémicos en plantas de maravilla; al mismo tiempo se determinó el grado de persistencia de cada uno de ellos en la planta y su acción *in vivo* sobre el hongo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Barry, agente causal de la esclerotiniosis.

#### MATERIALES Y METODOS

En el presente trabajo se estudió la translocación tanto ascendente como descendente y la persistencia en plantas de maravilla de los nuevos fungicidas, *Benlate* (benomyl : 1-(butilcarbamoil) -2-benzimidazol) (carbamato de metilo), *Tecto 40* (tiabendazol : 2-(4-tiazolil) -benzimidazol); *Cercobin M* (metiltiofanato : 1,2-bis (3 metoxicarbonil-2-tioureido) benceno), *Sclex* (diclozoline : 3 (3,5-diclorofenil-5,5-dimetiloxazolidina - diona-2,4); *CELA W524* (triforine : N,N'-bis(1-formamido-2,2,2-tricloroetil) -piperazina) y *EL-273* (triarimol :  $\alpha$ -(2,4-diclorofenil) - $\alpha$ -fenil-5-pirimidina - metanol).

El trabajo experimental se realizó bajo condiciones de invernadero, aplicando cada producto en una sola dosis (Cuadro 1). Las diferentes dosis utilizadas correspondieron a la mínima concentración capaz de inhibir completamente el desarrollo miceliar del hongo *Sclerotinia sclerotiorum in vitro*.

La acción de cada fungicida se evaluó biológicamente a través de pruebas de difusión en agar, utilizando para ello secciones transversales de alrededor de 1 cm de espesor, cortadas en la parte basal del tallo y desde el sistema radicular de cada planta tratada.

Tres secciones de cada planta perteneciente a un mismo tratamiento, convenientemente desinfectadas con bicloruro de mercurio, se sembraron en discos de Petri con agar-papadextrosa, acidulado, en forma equidistante a un trozo de micelio de *S. sclerotiorum*, obtenido de un cultivo puro mediante sacabocados de 5 mm de diámetro. En esta forma se prepararon tres discos de Petri por cada planta tratada y como testigos se prepararon otros tres discos con secciones de plantas sin tratar.

La presencia de cada fungicida se determinó a través de la inhibición del crecimiento miceliar en torno a cada sección de planta tratada, después de 3 a 4 días de incubación a 25°C y una vez que en los discos testigos el

desarrollo miceliar cubrió totalmente las secciones de plantas no tratadas.

El estudio de la translocación ascendente y su persistencia se realizó en plantas de maravilla, cultivadas en macetas, previamente tratadas con cada producto. Los fungicidas formulados en polvo (Benlate, Cercobin M, Sclex y EL-273) se mezclaron con el suelo, cuyo peso fue previamente determinado de modo de obtener la concentración deseada en el volumen total del suelo. Inmediatamente después de mezclar el fungicida con el suelo, cada maceta se regó con 500 cc de agua destilada. Los fungicidas líquidos (Tecto 40 y CELA W524) se aplicaron directamente en 500 cc de agua destilada.

La translocación descendente y su persistencia se determinó en material pulverizado, al estado de botón floral sólo en la parte superior del follaje en 200 cc de suspensión acuosa de cada fungicida, en la concentración indicada en el Cuadro 3.

En ambos estudios, se utilizaron 18 macetas por cada fungicida y se dejó un número similar de testigos sin tratar.

En el caso de la translocación ascendente, la presencia de los fungicidas se determinó mediante muestreos periódicos de secciones transversales de planta tomadas desde el tallo, en la zona comprendida entre los 5 y 10 cm de altura sobre el nivel del suelo, y/o desde el sistema radicular. Los muestreos se realizaron a los 15-25-35-45-55-70 días después

**Cuadro 2 — Persistencia y efectividad de los fungicidas en plantas de maravilla al estado de botón, expresado en porcentaje de control sobre el total de plantas inoculadas con *S. sclerotiorum*.**

Tratamientos	Dosis	Total	Plan-	% de control
Producto	(ppm)	plan-	tas en-	sobre el to-
		tas.	fermas. tal de plan-	tas inocula-
			das.	
Benlate	200	10	0	100
Cercobin M	300	10	0	100
Sclex	200	10	4	60
EL-273	40	10	8	20
Tecto 40	150	10	8	20
CELA W524	400	10	10	0
Testigo	—	10	10	0

de la siembra y aplicación al suelo de cada fungicida.

**Cuadro 3 — Translocación descendente y persistencia. Presencia o ausencia de fungicida en el tallo, después de la aplicación foliar a plantas de maravilla en el estado de botón.**

Tratamientos	Dosis	Días después aplicación					
		1	3	8	10	14	20
Producto	(ppm)*						
Benlate	400	—	—	—	—	—	—
EL-273	50	—	—	—	—	—	—
Sclex	200	—	—	—	—	—	—
Cercobin M	400	—	+	+	+	—	—
CELA W524	400	—	—	—	—	—	—
Tecto 40	200	+	+	+	+	+	+

\*Ingrediente activo.

+Presencia evidente del fungicida.

—Ausencia del fungicida.

En el estudio de la translocación descendente, la presencia o ausencia del producto en la planta se evaluó a través de muestreos similares a los anteriormente descritos, pero efectuados sólo en secciones de tallo, los cuales se realizaron a las 24 horas y a los 3-8-10-14-20 días después de aplicar los respectivos fungicidas.

En ambos ensayos, translocación ascendente y descendente, cada muestreo se llevó a efecto en tres plantas por cada tratamiento y en un número similar de plantas sin fungicidas las que fueron utilizadas como testigos.

La persistencia y efectividad de cada fungicida en la planta luego de incorporarlo al suelo, fue también evaluado, a través del grado de control obtenido al inocular plantas de maravilla, al estado de botón floral, con el hongo *S. sclerotiorum*. Las inoculaciones se realizaron en la base de los tallos, mediante el uso de mondadientes previamente infestados con micelio de *S. sclerotiorum*, técnica descrita por Auger y Nome (1970b). Se utilizaron 10 macetas por cada tratamiento y como testigo se utilizó un número similar de plantas cultivadas en macetas sin fungicidas. Cabe señalar que en este último ensayo fue necesario reducir las dosis de los fungicidas Benlate, EL-273, Cercobin M y Tecto 40 (Cuadro 2), debido a efectos fitotóxicos observados en el estudio de translocación ascendente y persistencia, evaluado con anterioridad mediante la prueba de difusión en agar.

## RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo con los resultados obtenidos, todos los fungicidas empleados son movilizados por la planta en forma ascendente, luego de incorporarlos al suelo en el momento de la siembra (Cuadro 1). Estos resultados coinciden ampliamente con los obtenidos en trabajos similares (Pellissier *et al.*, 1971; Auger y Nome, 1970b; Hardison, 1971; Erwin *et al.*, 1971; Schicke y Veen, 1969, y Buchenauer y Erwin, 1971).

Todos los fungicidas fueron detectados tanto en las raíces como en el tallo, 15 días después de aplicarlos (Cuadro 1). Benlate, Sclex y Cercobin M fueron biológicamente detectados en las pruebas de difusión en agar, 70 días después de haberlos incorporado al suelo (Figura 1). Sin embargo, al cabo del mismo tiempo, tan sólo Benlate y Cercobin M mostraron un control total de la esclerotiniosis en plantas de maravilla (Cuadro 2). Sclex detuvo el desarrollo de la enfermedad en un 60% de las plantas, lo que probablemente se debe a una baja concentración activa de este fungicida en el tallo.

A través de la prueba de difusión en agar fue posible constatar la presencia de EL-273 y CELA W524 en el tallo sólo 15 días con posterioridad a la aplicación, mientras que Tecto 40 permaneció activo por 25 días después de haberlo incorporado al suelo (Cuadro 1). No obstante, cabe señalar que tanto EL-273 como Tecto 40 conservaron su actividad en el sistema radicular aún 35 días después

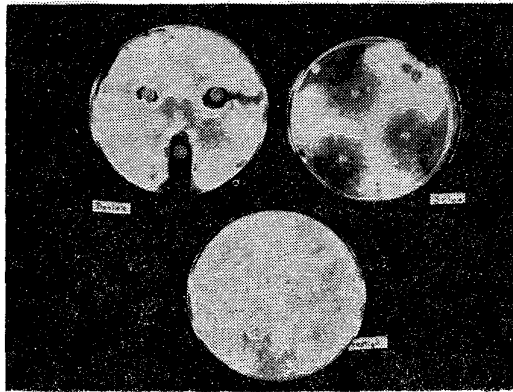


Figura 1 — Inhibición en el crecimiento de *S. sclerotiorum* al aproximarse a los trocitos de tallos de plantas de maravilla, obtenidos a los 70 días después de aplicar Benlate y Sclex al suelo. Compárase con la placa testigo (Foto: Jorge Castro, diciembre, 1971).

de su aplicación, y CELA W524 hasta 45 días después (Cuadro 1).

Los resultados obtenidos al evaluar la persistencia de EL-273 y Tecto 40 por medio de inoculaciones al nivel del tallo, corroboraron parcialmente las observaciones anteriores. Tanto EL-273 como Tecto 40 controlaron el desarrollo de la esclerotiniosis en un 20% de las plantas, mientras que CELA W524 no tuvo efecto inhibitorio sobre el desarrollo de la enfermedad (Cuadro 2).

En el estudio de la translocación descendente, se constató la presencia de los fungicidas Cercobin M y Tecto 40 entre los 5 y 10 cm basales del tallo de las plantas tratadas (Cuadro 3). Cercobin M persistió durante 10 días, mientras que Tecto 40 se detectó aún a los 20 días con posterioridad a su aplicación.

En el primer caso sin embargo, éste no se detectó en el muestreo realizado a las 24 horas de ser aplicado. Podría interpretarse esto último como que el producto se mueve en forma lenta en la planta (Cuadro 3).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo con los fungicidas Benlate y Cercobin M aplicados al suelo son altamente promisorios para el control de la esclerotiniosis. Ambos fungicidas fueron capaces de inhibir el desarrollo de *S. sclerotiorum* en plantas inoculadas durante el período de máxima susceptibilidad, que corresponde según los resultados publicados por Auger y Nome (1970a), al estado de botón floral.

Sólo Sclex y CELA W524 no presentaron fitotoxicidad al aplicarlos al suelo en las dosis señaladas en el Cuadro 1. Los restantes productos causaron un retraso en el crecimiento y síntomas de fitotoxicidad en el follaje, lo que obligó a reducir las dosis en la última parte de este trabajo (Cuadro 2). Cabe destacar, que no se observó fitotoxicidad con ninguno de los productos cuando se aplicaron el follaje.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados del presente trabajo y bajo las condiciones experimentales en que se realizó, se puede concluir que todos los fungicidas en estudio presentan evidente translocación ascendente en el tallo de las plantas de maravilla, luego de aplicados al suelo en el momento de la siembra.

La persistencia oscila entre 15 días (EL-273 y CELA W524); 25 días (Tecto 40) y los

fungicidas Benlate, Sclex y Cercobin M presentan una persistencia en el tallo de aproximadamente 70 días, período que cubre satisfactoriamente las épocas susceptibles de botón y flor fecundada.

La persistencia de Benlate y Cercobin M aplicados al suelo, quedó además demostrada al controlar satisfactoriamente la enfermedad en plantas de maravilla inoculadas con *S. sclerotiorum* al estado de botón.

Solamente los fungicidas Tecto 40 (20 días después) y Cercobin M (10 días después) pre-

sentan translocación descendente en el tallo, luego de aplicados al follaje poco antes del estado de botón. La persistencia de ambos fungicidas aplicados de esta manera cubriría en forma satisfactoria el período de máxima susceptibilidad de la maravilla a la esclerotiosis.

En las dosis utilizadas, sólo los productos Sclex y CELA W524 no produjeron fitotoxicidad cuando se aplicaron al suelo. Por otra parte, ninguno de los productos aplicados al follaje produjeron fitotoxicidad.

## RESUMEN

Se realizó una investigación para determinar la translocación ascendente y descendente, y la persistencia de los nuevos fungicidas Benlate (benomyl), EL-273 (triarimol), Sclex (diclozoline), Cercobin M (metiltiofanato), CELA W524 (triforine) y Tecto 40 (tiabendazol).

Los estudios se llevaron a efecto en plantas de maravilla (*Helianthus annuus* L.) cultivadas en invernadero. La evaluación se realizó biológicamente a través de la prueba de difusión en agar, empleando para este efecto el hongo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. La persistencia y efectividad de los fungicidas aplicados al suelo también se evaluó mediante inoculación de plantas al estado de botón, utilizando mondadientes infestados con el hongo.

Para estudiar la translocación ascendente y su persistencia, cada producto se aplicó al suelo en una sola dosis en el momento de la siembra y en el estudio del movimiento descendente, cada fungicida se asperjó en dosis única sobre las hojas apicales y al estado de botón de las plantas de maravilla.

Todos los fungicidas estudiados mostraron una evidente translocación ascendente. La persistencia varió con los diferentes fungicidas aplicados al suelo, fluctuando entre 15 y 70 días. Los fungicidas Benlate, Cercobin M y Sclex presentaron una persistencia de 70 días, tanto en raíces como en el tallo. Sin embargo, sólo Cercobin M y Tecto 40 presentaron translocación descendente y una persistencia en el tallo hasta los 10 y 20 días después de su aplicación, respectivamente.

Benlate y Cercobin M controlaron satisfactoriamente a *S. sclerotiorum* *in vivo* bajo condiciones de invernadero, corroborando en esta forma los resultados obtenidos acerca de su persistencia en el tallo.

## SUMMARY

An experiment was carried out to determine systemic action, ascendent and descendent translocation as well as persistence of the new fungicides Benlate (benomyl), EL-273 (triarimol), Sclex (dichlozoline), Cercobin M (metyltiophanate), CELA W524 (triforine) and Tecto 40 (thiabendazole).

Sunflower (*Helianthus annuus* L.), grown under greenhouse conditions, was the test plant.

Bioassay evaluation using *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary as the pathogen was made through agar plate diffusion test. Persistence of the fungicides applied into the soil, was also evaluated through artificial inoculation of sunflower plants at flower-bud stage, using toothpicks infested with the fungus.

For studying ascendent translocation and persistence in the plants only one rate of the fungicide was applied to the soil at seeding time, and for observe descendent movement, each fungicide was sprayed, at one rate, over the apical leaves during the flower-bud stage.

All fungicides showed upward movement. Persistence varied with different compounds when applied to soil, ranging between 15 and 70 days. Benlate, Cercobin M

and Sclex had a 70 days persistence both in roots and Stem. However, Cercobin M and Tecto 40 exhibited descendent translocation and persistence in stem tissues up to 10 and 20 days after application, respectively.

Benlate and Cercobin M controlled *S. sclerotiorum* satisfactorily *in vivo*, under greenhouse conditions, thus confirming previous results on their persistence in stems.

#### LITERATURA CITADA

- AUGER, S. J. y NOME, H. F. 1970a. Efecto de la edad en la predisposición de la maravilla (*Helianthus annuus* L.) a la esclerotiniosis (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary). Agricultura Técnica (Chile). 30 (3): 161-165.
- y —————. 1970b. Acción del fungicida sistémico Benlate 50% (1 (butilcarbamil)-2 benzimidazole ácido carbámico, metil éster), sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, agente causal de la marchitez de la maravilla (*Helianthus annuus* L.). Agricultura Técnica (Chile). 30 (4): 188-191.
- BUCHENAUER, H. and ERWIN, D. C. 1971. Control of Verticillium wilt of cotton by spraying foliage with Benomyl and Thiabendazole solubilized with hydrochloric acid. Phytopath. 61 (4): 433-434.
- EBENEBE, CH., FEHRMANN, H. and GROSSMANN, F. 1971. Effect of a new systemic fungicide, Piperazin-1,4-Diyl-bis(1-(2,2,2-trichloroethyl) formamide), against wheat leaf Rust. Plant Dis. Repr. 55 (8): 691-694.
- ERWIN, D. C., SIMS, J. J., BRORUM, D. E. and CHILDERS, J. R. 1971. Detection of the systemic fungicide, Thiabendazole, in cotton plants and soil by chemical analysis and bioassay. Phytopath. 61 (8): 964-967.
- HARDISON, R. J. 1971. Control of *Ustilago striiformis* and *Urocystis agropyri* in *Poa pratensis* by Thiophanate fungicides. Phytopath. 61 (12): 1462-1464.
- OST, W., BRUCHAUSEN, V. and DRANDAREVSKI, CH. 1971. Transport of the systemic fungicide CELA W524 in Barley Plants. (Part I). Pestic. Sci., 2:219-224.
- PELLISSIER, M., LACASSE, N. L. and COLE, H. J. 1971. Uptake of benomyl by bean plants. Phytopath. 61 (2): 132 (Abstract).
- SCHICKE, P. and VEEN, K. H. 1969. A new systemic, CELA W524 (N,N'-bis(1-formamide-2,2,2-trichloroethyl)-piperazine) with action against powdery mildew, rust and apple scab. Proc. 5th Br. Insectic. Fungic. Conf., 2:569-575.
- TAYLOR, R. E. 1970. Systemic fungicides. Agriculture (Lond.). 77 (7): 310-312.
- WAIN, R. L. and CARTER, G. A. 1967. Uptake, Translocation and Transformations by higher plants. In Torgeson, D. C. Fungicides. V. 1. Cap. 14. N. Y. Academic. 697 p.