

CONSIDERACIONES DE LA ACTIVIDAD FUNGICIDA, ASPECTOS METODOLOGICOS Y DETECCION DE LA RESIDUALIDAD DE CAPTAFOL EN LA PULPA DE CAFE

Por: Alvaro Montes Victoria *
Jairo Alfonso Tezna *
Iván Zuluaga C. **

INTRODUCCION

En el control de plagas y enfermedades en la agricultura, los plaguicidas tienen una gran importancia y actúan sobre éstas de muy diversas maneras. Estos productos no son indefinidamente estables en su composición química, sino que se transforman originando metabolitos, el caracter de éstos últimos depende ante todo del factor químico del compuesto básico de síntesis.

La metodología seguida en las aplicaciones normales de plaguicidas, determinan que las fracciones de los productos parentales o de sus metabolitos, se localizen en los tejidos de las plantas de cultivo o en los animales que se alimentan de ellas, en el agua de los lagos y rios, en el aire, en los lugares de habitación, etc. Estos residuos dependiendo de su composición química, pueden ser rápida o lentamente degradados, como el caso de los órganoclorados.

Para conocer la dinámica de estos productos químicos es importante relacionarlos con el medio que rodea la aplicación; por esto la investigación sobre cualquier plaguicida debe tener en cuenta los siguientes pasos pues ellos proporcionan una fuente de conocimiento sobre las propiedades del producto, su acción sobre la flora y la fauna, interacción con el ambiente, interacción con la parte externa del organismo, transporte intracelular y redacción en el sitio crítico.

El presente trabajo, en la parte de revisión de literatura, recoge la mayor cantidad de información sobre los puntos anteriores. La parte experimental trata de mostrar la degradación de un fungicida a través del tiempo, luego de una aplicación normal.

* Estudiantes de pre-grado Universidad Nacional de Colombia Palmira

** Ing. Agr., M. Sc. Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia Palmira

El fungicida escogido para esta investigación fué el captafol, el cual ha tenido excelentes resultados en el control de *Cercospora coffeicola* y de *Phoma* sp.

Un objetivo del trabajo es el de observar la degradación del fungicida Captafol (Difolatan) en la pulpa de café, después de un tiempo de aplicación y hacerle su seguimiento durante el período en el cual se asume, van desapareciendo sus residuos.

El otro objetivo es el de comprobar la eficiencia y la posibilidad del empleo de una técnica de laboratorio para detectar los residuos dejados por este producto.

Los autores del trabajo desean aclarar que si se escogió un cultivo determinado y un fungicida específico, no se debe a que se pretenda limitar el campo de acción de la investigación, sino que puede decirse, que el cultivo y el fungicida son "accidentales" dentro del plan del trabajo y sólo sirven como medios para adelantarlo. Por lo tanto, el mismo trabajo pudo haberse realizado con otros cultivos donde la práctica de aplicación de fungicidas es común y así mismo con otros productos.

REVISION DE LITERATURA

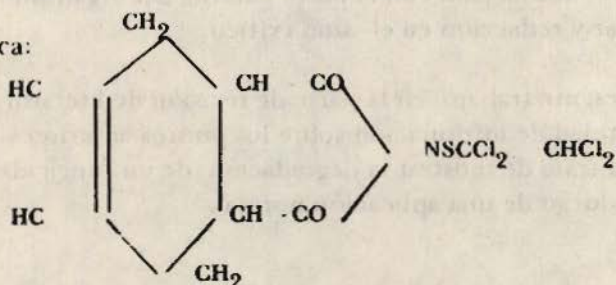
Las características principales del producto empleado son las siguientes:

Marca registrada: Difolatan

Nombre común: Captafol

Nombre químico: Cis - n - (1,1,2,2 -Tetracloroetil-tio) -4 - ciclohexano -1,2 - dicarboximida.

Estructura química:



Propiedades físicas: Punto de fusión 162°C., olor suave penetrante. insoluble en agua, ligeramente soluble en alcohol, benceno y solventes clorados, y muy soluble en hidrocarburos alifáticos.

Propiedades químicas: Es preparado por la reacción de la hidrophtalimida y 1,1,2,2 tetracloroetilsulfenil clorado en presencia de hidróxido de sodio acuoso. La hidrolización es función de la temperatura y el pH.

Los principales metabolitos encontrados son: tetrahidrophtalimida, epoxido de tetrahidrophtalimida, 5,6-dihidroxihexahidrophtalimida, ácido tetrahidrophtalámico, ácido tetrahidrophtálico, phtalimida, ácido dicloroacético.

Respecto a la toxicidad del Captafol (Difolatan) se ha encontrado que la toxicidad oral aguda para el Difolatan 80o/o PM en ratas fué de 4.200 mg/Kg. No se encontró efectos teratogénicos, mutagénicos ni cancerígenos.

Relación hongo-fungicida.

Los fungicidas en su sentido amplio, protegen las plantas antes de que enfermen, destruyendo el inóculo. Estos que son la mayor parte, se les denomina fungicidas protectores (13).

Para que el tóxico sea capaz de prevenir el desarrollo de un hongo, debe entrar en contacto con él e inhibir algunos de sus procesos vitales. Es importante conocer la cantidad de tóxico que debe ser tomada por las esporas, para originar inhibición o letalidad.

La "toma" del tóxico por la espora se puede producir por:

- Adsorción (penetración superficial)
- Absorción (penetración por medio de órganos) y
- Sorción (chupar ó atraer el alimento) (13)

Es necesario conocer la cantidad de tóxico tomada del medio por un determinado peso de esporas. De esta forma se determinan con precisión el índice tóxico de los fungicidas, que se expresan en ug o gamas de tóxico por gramo de esporas, necesarios para producir inhibición o letalidad. Generalmente se expresa en "dosis efectiva 50" (DE_{50}), es decir la cantidad que resulta efectiva (mata o inhibe) al 50o/o de una población, tomando este valor medio, para que las resistencias individuales no puedan inducir a error, como podría ocurrir considerando dosis efectivas para el 100o/o de los individuos (13).

Por regla general se puede decir que los hongos son entidades químicamente acuosas, pues las reacciones químicas que realizan se dan por me-

dio acuoso; por lo tanto, todo fungicida debe reaccionar en medio acuoso (6).

El principal problema que encuentra el fungicida para entrar en la célula del hongo consiste en poder atravesar la membrana semipermeable, que es selectiva, lo cual le da la posibilidad a la célula de "elegir" las sustancias que pasan a través de ella. Esta, de acuerdo a su estructura, la cual presenta una parte protéica, luego una parte de grasas y finalmente otra protéica, hace que el compuesto que quiera pasar a través de ella, reúna las características de ser soluble en las tres capas de esta membrana, o sea, primero debe pasar la parte protéica exterior, luego la parte grasosa y por último la parte protéica interior (6).

Una forma como se puede incrementar la solubilidad en grasas de un compuesto, consiste en agregarle una cadena hidrocarbonada. Otro método que permite a la molécula del fungicida penetrar en la zona del hongo, consiste en agregar lo que puede llamarse una sustancia acompañante, tales como azufre y cobalto tal como lo demostraron Lukens y Rich (9), Scardavi y Ciferri citados por Horsfall (5).

En relación a la forma de actuar del fungicida se sabe que reaccionan con los compuestos sulfhidrilos, los cuales inactivan su solución (6). Según Lukens y Sisler (10) la acción fungitóxica se debe a la combinación del grupo tiofosgeno con los grupos sulfhidrilos libres, grupos carboxílicos de la célula del hongo.

De acuerdo con el experimento realizado por Lukens y Horsfall (8), para averiguar el papel que cumple la cadena hidrocarbonada en la penetración de la imida en la célula, se concluyó que ésta cadena, fuera de poseer caracteres tóxicos sobre el hongo, su papel era de conducir la imida dentro de la célula. De acuerdo con Horsfall (6), el cloro que se encuentra dentro de la molécula del fungicida, también puede actuar como fungitóxico.

Owens y Novonty (12), encontraron que el fósforo inorgánico se acumula en las esporas envenenadas, lo que sugiere que el fungicida interfiere el metabolismo de dicho elemento; además, encontraron que se disminuía el ácido nucléico y el fósforo de los lípidos de la célula.

Grover (4), en un estudio realizado con Captatol, encontró bajo condiciones de laboratorio, que este producto disminuye la actividad de las enzimas pectolíticas del hongo y a medida que aumentaba la concentración del fungicida se disminuía o se anulaba la actividad enzimática del

hongo.

Además de la acción del producto sobre el patógeno, éste actúa sobre la superficie vegetal. Algunos de los fungicidas no sólo se quedan sobre la cutícula de la planta donde se aplica, sino que además pueden tener movimiento transcuticular, sin afirmar que actúan como verdaderos sistémicos, ya que su actividad sistémica comparada con la de estos es relativamente poca (1).

Soled y Edginton (14), compararon el movimiento transcuticular de varios fungicidas y encontraron que el Captafol, el Captán y el Clorotalonil poseen una baja capacidad traslaminar, pero a medida que aumentaban las dosis de éstos, se aumentaba proporcionalmente la translocación y concluyeron que la no inactivación durante un periodo de tiempo se debía posiblemente a la retención de éstos fungicidas en los tejidos adyacentes a la cutícula.

Con respecto a la acción fisiológica de la planta, como respuesta a la presencia del fungicida, Barberá (1), reporta que los fungicidas imídicos logran el proceso respiratorio, tanto en el hongo como en la planta, afirmando que la función respiratoria de la planta queda ligeramente deprimida, mientras que la acción fotosintética no se ve alterada.

La capacidad que tienen los fungicidas para resistir las inclemencias atmosféricas se mide por la relación entre el residuo final y la cantidad depositada inicialmente. Horsfall citado por Evans (2), advirtió que estos valores cambian de acuerdo con la naturaleza de la superficie vegetal y el tipo de preparado empleado.

El depósito inicial que deja un fungicida está relacionado con los siguientes factores:

- La retención, que depende fundamentalmente del tamaño y velocidad terminal de la gota y de la distancia al punto de destino; además de la naturaleza de la superficie tratada.
- La distribución, la cual está relacionada con el punto anterior y con el tipo de aplicación; por lo tanto, de la boquilla utilizada y la capacidad de la niebla para penetrar en la masa de vegetación.
- El cubrimiento, que depende de la aspersión, del tamaño de las gotas y del volumen de fumigante que se aplique.
- La redistribución del fungicida, la cual se debe ante todo a los factores atmosféricos especialmente la lluvia y la evaporación.

Según Freed (3), los principales factores ambientales que influyen en

la efectividad y la cantidad de residuos dejados por un plaguicida, son:

- Temperatura (altura y variación)
- Lluvia (suministro de humedad)
- Luz (intensidad y calidad)
- Suelo.

Necesidad social de los análisis. La cromatografía como propuesta.

Los pesticidas se han convertido, en la agricultura moderna altamente tecnificada, como una alternativa para el logro de mejores producciones.

Su consumo se ha visto incrementado ya sea como una necesidad real o por una presión ejercida por las casas productoras; el caso es que en el año de 1954 se registra una cifra cercana a 18 millones de Kg. de ingrediente activo, en su mayoría de origen orgánico, difíciles de eliminar en el proceso de degradación ambiental, con una lógica potencialidad residual en el medio.

Organismos interesados, como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO), conjuntamente desde 1961 adelantan trabajos para evaluar la cantidad residual y el potencial de peligro sobre el consumidor o para quien esté expuesto a ello.

Para dicho fin, la cromatografía es acogida como un método sencillo y muy confiable; es así como ésta técnica conocida desde fines del siglo pasado se ha convertido, sobre todo en los últimos 20 años en una práctica obligada en los laboratorios en donde se desarrolla este tipo de análisis (15).

La cromatografía se base en los principios fisicoquímicos de separación, como la adsorción, partición e intercambio iónico. Consiste en separar sustancias por filtración de sus soluciones a través de una columna de adsorbente finamente pulverizado (fase estacionaria); la sustancia a separar se coloca en solución en un líquido eluyente sobre el sorbente y es transportada por un solvente que se mueve por capilaridad (fase móvil).

Interacciones de los principios inicialmente citados. Dadas las características fisicoquímicas de los reactivos utilizados y las sustancias a separar, el arrastre es diferencial y exclusivo para cada uno de los componentes de la mezcla. Al cabo del tiempo que gaste el solvente para

recorrer una distancia determinada sobre la columna (frente de solvente), las diferentes sustancias de la mezcla recorrerán las suyas propias, dadas sus diferentes velocidades de migración. La relación entre éstas distancias y el frente de solvente será pues exclusiva para cada sustancia (R_f), dato necesario para procedimiento de identificación.

La naturaleza de las sustancias a separar, sobre todo los pesticidas, no ofrecen un desarrollo en rango visible, para lograrlo es necesario tratar la columna con una sustancia cromogénica (revelador) o mediante la utilización de luz ultravioleta (5).

De acuerdo a la fase estacionaria donde se desarrolla el proceso, la cromatografía puede dividirse:

Cromatografía en papel: Basada en el principio de partición; el solvente se desplaza con la muestra sobre hojas de papel filtro tratadas y estandarizadas.

Cromatografía en columna: Basada en el principio de adsorción principalmente aunque también intervienen los otros dos. El sorbente sobre el que se desplaza el solvente está contenido en un tubo de vidrio.

Cromatografía de gases: Una corriente de gas eluyente se desplaza a través de una columna de un sólido inerte que contiene un líquido adsorbente. La separación estriba en la diferencia del coeficiente de partición de las diferentes sustancias que constituyen la muestra.

Cromatografía de capa fina: También llamada cromatografía de columna abierta, cromatografía de capa delgada o de lámina delgada. Por ser ésta la técnica utilizada en la presente práctica la detallaremos un poco.

Basada en el principio de adsorción y en menor grado los de partición e intercambio iónico. Una fina capa de adsorbente pulverizado es extendido junto a una sustancia aglutinante sobre un soporte de vidrio plástico o aluminio. La sustancia a separar se coloca diluída sobre la columna de sorbente, es arrastrada por fenómenos de capilaridad por el eluyente y los componentes de la sustancia problema, debido a las propiedades físicas y químicas de los reactivos empleados en el proceso, recorrerán sobre la placa diferentes distancias y específicas para cada una de ellas (11).

El sorbente debe presentar características de poca difusión, esto es, que las manchas que se registren deben ser de reducido tamaño; además, que permitan nitidez de separación y mayor sensibilidad. El aglutinante y el folio sobre el cual se extiende, no deben influir sobre las características de sorbencia (5).

La velocidad de migración de los eluentes está influenciada por sus caracteres químicos, al aumentar la polaridad aumenta el tiempo de recorrido, dado a que se adhiere más fuertemente (4). El número de grupos hidróxilo le dan iguales características de mayor poder eluente; los puentes hidrogenados le disminuyen la adsorbilidad (7).

Procedimientos analíticos.

La sustancia a detectar existe en pequeñas cantidades, frente a una mayor presencia de materiales derivados del producto al cual se le ha aplicado el pesticida. Para analizarlo necesitamos extraerlo de esa muestra, lo que se hace por medio de un solvente; este proceso se conoce como extracción -ningún procedimiento logra un 100o/o. Para tal fin es necesario conocer la forma como el pesticida está ligado a la muestra.

El pesticida no se extrae puro, el solvente recupera también una cantidad considerable de material extraño que puede interferir en el proceso de identificación. Se hace necesario minimizar estas sustancias mediante una limpieza con otros solventes.

Para procesos cuantitativos, los volúmenes de solventes utilizados deben ser registrados.

El extracto concentrado se diluye con volúmenes determinados de solventes y se aplica mediante un capilar o pipeta sobre la cromatoplaca, en forma de banda intercalado con patrones de la sustancia a detectar.

En la plaga se determina el frente de solvente, es decir la distancia que éste debe migrar, retirando una línea recta del sorbente. De esta manera, se procede a colocarla dentro de la cámara de elusión que debe contener una cantidad de eluyente que cubra unos 15 mm., del borde inferior de la cromatoplaca. La cámara además debe estar saturada con vapores del mismo solvente, colocándose papel de filtro impregnado con éste.

La placa queda "eluida" después de un tiempo determinado por la velocidad de migración del solvente. Posteriormente ésta se saca, se "revela" mediante aspersión de un líquido cromogénico o exposición a luz ultravioleta, las manchas características aparecen al cabo de un tiempo.

Si los volúmenes de sorbentes utilizados en la extracción y la limpieza se han registrado, puede cuantificarse el residuo existente, se construye una curva de concentración contra el área de cada mancha, preparada de antemano, dado que el tamaño de una mancha aumenta en relación directa con su concentración. Se ha demostrado que la superficie de una mancha

redonda u ovoide aumenta en relación directa con el logaritmo de la concentración (7).

MATERIALES Y METODOS

Localización y descripción de la zona.

La finca donde se realizó el presente trabajo está localizada en la vereda La Quisquina, en el municipio de Palmira.

Altitud: entre 1500 y 1800 m.s.n.m.

Precipitación: varía entre 1800 y 2200 mm. anuales

Radiación: Difusa

Tipo de suelo: originado de diabasa y basaltos, con buen drenaje interno.

Materiales de campo.

Fungicida: Difolatán 80o/o PM. a una dosis de 2.5 g/l (ingrediente comercial).

Bomba aspersora: marca Calimax con capacidad para 20^l de presión constante, con una boquilla de chorro cuyo orificio tiene un diámetro de 1.5mm.

Cultivo de café: dos años once meses de edad, sembrado a una distancia de 1.70 m. entre surcos y 1.30 m. entre árboles. Con semisombrío de plátano, guamo y frutales. De este cultivo se tomaron 300 árboles para realizar el experimento.

Bolsas de polietileno.

Deñulpadora manual

METODOLOGIA DE CAMPO

Se asperjaron los 300 árboles con 60 litros de solución acuosa del fungicida.

La recolección del lote de café se hizo de la siguiente manera: Se dividió el lote total de 15 surcos y 20 árboles por surco, en 6 pequeños lotes los cuales poseían cada uno 5 surcos y 10 árboles por surco. De cada pequeño lote se recogía aproximadamente 1 kg. de café "cereza" maduro;

después se mezclaba todo el café recogido de los pequeños lotes y se despulpaba; de la pulpa obtenida se escogió una cantidad de 1 kg. aproximadamente. Este material se introdujo en bolsas plásticas con destino al laboratorio para analizarlo el mismo día.

La recolección de las muestras se hizo en los siguientes días: el 27 y 30 de abril; el 4, 8, 11, 15, 18 y 21 de mayo de 1979, o sea 1, 4, 8, 12, 15, 19, 22 y 25 días después de aplicación respectivamente.

Materiales, reactivos y equipos utilizados en el laboratorio.

Los materiales, reactivos y equipos utilizados para llevar a cabo esta determinación fueron:

- Pulpa recolectada
- Difolatan 80o/o PM
- Benceno
- Na_2SO_4
- n - Pentano
- Metanol
- Na OH
- Dicloroetano
- Carbón activado
- DPD
- Agua

Equipo utilizado:

- Balanza eléctrica
- Licuadora
- Embudos
- Papel filtro
- Beakers
- Bomba de vacío
- Rotoevaporador de vacío
- Placas de silicagel de 20 cm. x 20 cm.
- Micropipetas.
- Mezclador giratorio
- Cámara de elusión
- Pulverizador
- Probetas
- Pipetas
- Cámara de fotografía

Metodología de laboratorio.

Se realizó en la presente práctica la metodología propuesta por Pack citado por Zweig (16), con algunas modificaciones.

De un kilo de pulpa traído de la finca se tomaron 100 gr; esta cantidad se licuó por más o menos 10 minutos en presencia de 400 cc. de benceno como solvente extractor y 25 gr. de NaSO_4 para retener el agua existente. Se filtró la fase orgánica pasándose por papel filtro con NaSO_4 .

La solución recogida se evaporó con una corriente suave de aire hasta quedar concentrados los sólidos presentes; en los cuatro últimos análisis éste se hizo mediante la utilización de el rotoevaporador de vacío con miras a recuperar parte del solvente. El concentrado obtenido se diluyó en una pequeña cantidad de n-Pentano y se procedió a rayar la placa, intercambiando ésta con patrones a concentraciones conocidas.

Una vez rayada, la placa se colocó al interior de la cámara de elusión que contenía una cantidad de dicloroetano como fase móvil y saturada la atmósfera por contener papel filtro impregnado con el mismo solvente.

Al cabo de un tiempo cercana a la media hora se cubrió el frente de solvente dispuesto en 15 cm. Minutos antes se preparó la sustancia reveladora disolviendo de 1.5 a 2 gr. de NaOH en 100 ml. de metanol, para agregarle casi al concluir la elusión de la placa, 0.5 gr. de DPD.

Se sacó la cromatoplaça y se asperjó con el revelador evidenciándose posteriormente las manchas correspondientes a los patrones y a los del extracto de pulpa.

Como el análisis no fué cuantitativo, se procedió a determinar la presencia de mancha característica del fungicida en el extracto, cotejándose con los patrones.

RESULTADOS Y DISCUSION

Por medio de la técnica de cromatografía de capa fina se logró gran parte de los objetivos propuestos. Después de una amplia revisión de literatura que nos permite conocer de alguna forma cómo el fungicida se interacciona con el hongo, con la planta, los procesos que sufre el depósito inicial para degradarse paulatinamente por diversos factores (6, 9). Y que el fungicida Captafol aplicado no posee características tales que permitan considerarlo como un verdadero sistémico, en cuanto a su penetración a las partes interiores del grano (1); así que solamente podríamos

encontrar residuos de éste en la pulpa; un análisis de ésta bastaría para detectar la persistencia o no del producto en la totalidad del fruto.

Los frutos tratados en la planta a diferente grado de maduración fueron colectados a diferentes épocas; se hicieron análisis a cada una de las muestras correspondientes. Se cotejó individualmente la presencia o no de residuos mediante la comparación de la elusión del extracto con la del patrón; en las placas que lo evidenciaron se observó que la distancia recorrida por la mancha del patrón difería ligeramente con la proveniente del residuo; éstas variaciones se pueden explicar dada la alta concentración de sustancias extraídas que resultan de un extracto altamente concentrado necesario en la cromatografía de capa fina (15).

No. Placa	1	2	3	4	5	6	7	8	
Ref.	0.51	0.49	0.51	0.51	0.48	0.49	0.48	0.63	$\bar{X}_8 = 0.51$ $\bar{X}_7 = 0.49$
Días des.	1	4	8	12	15	19	22	25	

Se observa que el promedio de los siete primeros análisis es 0.49, la inclusión del octavo lo lleva a 0.51 dado que registra un Rf muy alto, 0.63 debido a que la placa utilizada -silicagel - presenta un indicador ultravioleta que le da al sorbente características diferentes. Es de anotar que las propiedades de separación de esta placa son análogas a la utilizada en cada uno de los anteriores análisis.

En las primeras siete cromatoplasas se registra la aparición de la mancha café-naranja característica del fungicida en la elusión del extracto. El análisis correspondiente a frutos colectados 25 días después de la aplicación, no evidencia residuo. Se hizo un análisis similar con pulpa proveniente de la misma recolección y se obtuvieron resultados análogos.

Con lo anterior no se puede afirmar tajantemente, la no existencia de fungicida en la muestra, pues ha podido éste permanecer en cantidades tan baja, que el método no permitió registrar. La literatura consultada (11) enuncia que éste método permite apreciar cantidades de 1 a 5 microgramos.

5. CONCLUSIONES

Se han enfocado hacia los aspectos metodológicos que adelanta este tipo de trabajo.

1. La investigación realizada, permite sentar bases sobre otro tipo de estudios tales como:
 - Determinación de residualidad y tiempos de persistencia de otros plaguicidas.
 - Elaboración de dosificaciones y frecuencias de aplicación de diferentes plaguicidas.
2. El conocimiento de la persistencia de los plaguicidas y los efectos colaterales de los mismos, brinda la posibilidad de tener criterios más claros para elaborar una reglamentación precisa en tanto uso y manejo de plaguicidas.
3. La información que brinda la cromatografía de capa delgada es de mucha utilidad en la investigación agrícola, además esta técnica es fácil de desarrollar y sus resultados son confiables.
4. El principal problema de la implementación de este tipo de técnica, es su alto costo. Pero a pesar de esto, no se justifica que deba ser excluida dentro de estudios que la Facultad planifica, pues sus ventajas son muchas.

6. SUMMARY

The present investigation was effected with the purpose of determining the duration of the fungicide Captafol (Difolatan) on the coffee pulp and the residues left by the plaguicide, some time after is applied. To cover the objectives, the "Thin Layer Chromatography Technic" was utilised, of which it was tried to have a better acknowledgment, aimed to staddarize the use of this type of practices as an easy, fast and trustable way in the Agricultural investigation, to determine residues of plaguicides, in products for direct or undirect human consumption.

In one lot of 300 coffee trees (Coffee arabiga), Caturra variety, 2 years 11 months old, one application of Difolatan 80o/o PM. , was carried out in a doze of 2.5 g/l of commercial ingredient (i.a 2000 ppm); then hazardly recollections of mature grains were made which were depulped. This recollection were made 1, 4, 8, 12, 15, 19, 22 and 25 days after the chemical treatment with Difolatan 80o/o PM. The pulp recollected in each one of the periods, was taken the same day to the Laboratory and by means of the "Thin Layer Chromatography Technic", the existence or not of fungicide residues, was determined.

The results obtained, showed that residues remained until day 22,

since when the analysis in day 25, presency of residues was not observed, thus considering that the few residues remaining after day 22, were washed by the high rainy precipitations (61 mm) on the zone, during those days.

In addition to the foregoing, this investigation includes a wide review of literature about the relations established between the fungicide and the fungus; between the environmental factors with the steadimers of the agrochemical and the most important facts about the use of the "Thin Layer Chromatography Technic" for the analysis of residues of plaguicides.

7. BIBLIOGRAFIA

1. BARBERA, C. Pesticidas agrícolas. Ed. Omega. 1967 33 p.
2. EVANS, E. Enfermedades de las plantas y su control químico. Ed. Labor. 1973. 308 p.
3. FREED, V. H. Formulación de pesticidas para un control de plagas más seguro y efectivo. Proyecto UC- AID de manejo de plagas y protección ambiental relacionada. 1976. 103-114.
4. GROVER, R. Effect of some fungicides on pectolytic enzyme activity of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis allii*. *Phytopathology*. 54: 130-133. 1964.
5. HALPAAP, H. Estandarización de la cromatografía de capa fina mediante el uso de cromatoplasas. *Journal of Chromatography*. 33: 78-89. 1968.
6. HORSFALL, J. G. Perspectivas de los fungicidas. In Sarassola y Rocca. *Curso de Fitopatología*. Ed. Hemisferio Sur (1): 234 - 305.
7. LEDERER, E. y LEDERER, M. Cromatografía, revisión de sus principios y sus aplicaciones. Instituto de Biología y Físicoquímica. 250 p.
8. LUKENS, R. and HORFFALS, J. Fungitoxicity of N-substituted Phthalamide *Phytopathology*. 52: 925-927. 1962.
9. LUKENS, R. and RICH, S, Mechanism of action of the fungicide captan. *Phytopathology*. 49: 228-236. 1959.

10. LUKENS, R. and SISLER, H. Chemical reaction involved in the fungistoxicity of captan. *Phytopathology*. 48: 235-244. 1958.
11. MERCK INFORMACIONES QUIMICAS. *Cromatografía, principios y clases - la capa fina*. No. 15. 1970 4 p.
12. MERCK and NOVONTY, H. Mechanism of action of the fungicide captan. *Contributions of the Boyce Thompson Institute*. 20: 171-190. 1959.
13. SANTA MARIA, H. Fungicidas. In Sarassola y Rocca. *Curso de fitopatología*. Ed. Hemisferio Sur. 1: 199-234. 1975.
14. SOLED, Z. and EDGINTON, L. Transcuticle movement of fungicides. *Phytopathology*. 63: 505-510. 1973.
15. TINSLEY, I. Análisis de residuos de pesticidas. Proyecto UC-AID de manejo de plagas y protección ambiental relacionadas. 1976.
16. ZWEIG, G. Analytical methods for pesticides and plant growth regulator. 5: 293-304. 1973.