

# Algunas respuestas morfométricas y fisiológicas inducidas por el fungicida Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) en la planta de maíz (*Zea mays* L.)

Some morphometric and physiological responses induced by fungicide Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) in corn (*Zea mays* L.)

J.V. Lazo y J. Ascencio

Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela

## Resumen

Se evaluó, en ausencia de enfermedades, el efecto del fungicida Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) sobre algunas variables morfo-métricas y fisiológicas de la planta de maíz, mediante un ensayo bajo condiciones controladas de laboratorio y umbráculo, consistente de un diseño completamente aleatorizado con seis replicaciones y seis tratamientos: Opera®: 400, 500, 600 y 700 mL.ha<sup>-1</sup> un testigo comercial (Onix®; Carbendazim + Propiconazole) a 800 mL.ha<sup>-1</sup>; y un testigo no tratado. Las unidades experimentales consistieron de recipientes plásticos opacos a la luz, con 8 kg de suelo de textura franco-arenosa, fertilizado (kg.ha<sup>-1</sup>: 120 N, 50 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 40 K<sub>2</sub>O) y desinfectado con Basamid®. En cada recipiente se sembraron cuatro semillas del híbrido de maíz blanco H2020, y cuatro días posteriores a la emergencia se hizo un raleo selectivo para dejar una sola planta sana por recipiente. Se realizó una única aplicación de las dosis fungicidas a los 18 días después de la siembra (V4), y a los 25 días de edad (V6) se midieron las siguientes variables morfo-métricas y fisiológicas: número de hojas por planta (NHP), área foliar total (AFT: cm<sup>2</sup>), biomasa seca de la parte aérea (BSPA: mg), biomasa seca de la raíz (BSR: mg) y contenido relativo de clorofila (SPAD) y tasa fotosintética (TF: μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). Los resultados indicaron que las plantas tratadas con Opera® mostraron valores superiores de las variables morfo-métricas y fisiológicas, en comparación a las plantas del testigo comercial y el testigo no tratado. Los resultados sugieren que Opera® estimuló la fisiología de la planta de maíz.

**Palabras clave:** Efecto estimulante de estrobilurinas sobre la fotosíntesis, contenido de clorofila y desarrollo de la planta.

## Abstract

The effect of fungicide Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) on some morphometric and physiological variables of maize was evaluated under controlled laboratory and greenhouse conditions in absence of diseases. A split-plot randomized design was used with six replications and six treatments: Opera®: 400, 500, 600 and 700 mL·ha<sup>-1</sup> commercial witness (800 mL·ha<sup>-1</sup> of Onyx®: Carbendazim + propiconazole) and an untreated witness. The experimental units consisted of plastic pots opaque to light, filled with 8 kg of fertilized sandy loam soil (kg·ha<sup>-1</sup>: 120 N, 50 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 40 K<sub>2</sub>O) disinfected with Basamid®. In each plot, four seeds of maize, hybrid H2020 were planted, and four days after emergence the seedlings were thinned selectively to leave one healthy plant per container. A single application of each fungicide rate was performed 18 days after planting (V4). When plants were 25 days old (V6), the following morphometric and physiological variables were measured: total leaf area (LAT: cm<sup>2</sup>) number of leaves per plant (LNPP), dry biomass of the aerial part (DBAP: mg) and root dry biomass (RDB: mg), relative chlorophyll content (SPAD) and photosynthetic rate (PR: μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). Results indicated that maize plants treated with Opera®, had higher values for all tested variables as compared to the untreated and the commercial witness. Results suggest that Opera® stimulates the physiology of the maize plant.

**Key words:** Strobilurin stimulating effect on photosynthesis, chlorophyll content and plant growth and development.

## Introducción

La interferencia de las enfermedades fúngicas en las plantas cultivadas resulta en pérdidas significativas en la productividad y la calidad de la cosecha, por lo que el productor agrícola se ha visto obligado a utilizar una combinación de estrategias y técnicas para su control, que incluyen el uso de cultivares resistentes y/o tolerantes, tratamiento de semillas, uso de prácticas culturales (rotación de cultivos, fechas de siembra, densidad de plantas, entre otras) y la aplicación foliar de fungicidas. Hasta hace relativamente poco tiempo, antes de la introducción de los fungicidas del grupo de las estrobilurinas, el objetivo funda-

## Introduction

The interference of fungi diseases in cropped plants result in significant losses in the productivity and quality of the harvest, thus the producer is forced to use a combination of strategies and techniques for their control, this include the use of resistant and/or tolerant cultivars, seeds treatment, use of cultural practices (crop rotation, date of the harvest, density of the plants, among others) and the foliar application of fungicides. Not long ago, before introducing the fungicides of the strobilurin group, the main objective of the application was only to control the microorganisms that cause the diseases (Venancio *et*

mental de la aplicación era únicamente el control de los microorganismos causantes de enfermedades (Venancio *et al.*, 2003); sin embargo, numerosas investigaciones realizadas desde la introducción de la primera molécula de estrobilurina, han evidenciado que estos compuestos, además de su eficaz acción fungicida, ejercen una influencia positiva directa en los procesos fisiológicos de las plantas, independientemente del efecto de control sobre el patógeno. El fungicida Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) es un novedoso fungicida de efecto preventivo, curativo y erradicante, que presenta doble modo de acción, y uno de sus principios activos, el pyraclostrobin es una estrobilurina de última generación (Ammermann *et al.*, 2000; Margot *et al.*, 1998) que forma parte del grupo de fungicidas llamados “Inhibidores Externos de la Quinona” (QoI) porque inhiben el transporte de electrones en la cadena respiratoria mitocondrial, en el sitio de unión QO-ubiquinona del citocromo bc1 del complejo III (Beck *et al.*, 2002; Sauter *et al.*, 1999; Bartlett *et al.*, 2002). Estos compuestos controlan los hongos fitopatógenos al inhibir su respiración mitocondrial, lo que se traduce en la inhibición de la germinación de las esporas del hongo así como de otros estadios tempranos del desarrollo del patógeno, como el crecimiento del tubo germinal y el crecimiento del micelio (Dutzmann *et al.*, 2002). El espectro de acción *in vitro* cubre gran cantidad de patógenos de las clases de los Ascomicetos, Basidiomicetos, Deuteromicetos y Oomicetos. Los trabajos experimentales de campo llevados a cabo por Köhler *et al.*, 2002 demostraron que en culti-

*al.*, 2003); however, several researches carried out from the first strobilurin molecule have proved that these compounds besides having an accurate fungicide role, they have a positive direct influence on the physiological processes of the plants, independently from the control effect on the pathogen. Fungicide Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) is a new fungicide with a preventive, curative and eradicating effect, which presents a dual acting role, and one of its main active ingredient, pyraclostrobin is a last-generation strobilurin (Ammermann *et al.*, 2000; Margot *et al.*, 1998) part of the group of fungicides called “External inhibitors of Quinone” (QoI) since it inhibits the transportation of electrons in the mitochondrial respiratory chain, in the joining place QO-ubiquinone of the cytochrome bc1 of the III complex (Beck *et al.*, 2002; Sauter *et al.*, 1999; Bartlett *et al.*, 2002). These compounds control the phytopathogen fungi while inhibiting their mitochondrial respiration, which is translated in the inhibition of the spore germination of the fungus, as well as other early phases of the pathogen’s development, such as the growing of the germinal tube and the mycelium (Dutzmann *et al.*, 2002). *In vitro* action spectrum covers an important quantity of pathogens belonging to ascomycete, basidiomycetes, deuteromycetes and oomycete. Field experimental researches carried out by Köhler *et al.*, 2002 showed that in cereal crops that were treated with pyraclostrobin, yields increased significantly, superior to those that might have been obtained as an exclusive efficiency result for the

vos de cereales que fueron tratados con pyraclostrobin, hubo aumentos significativos en sus rendimientos, muy superiores a los que se pudieran haber obtenido como resultado exclusivo de su eficacia en el control de enfermedades. Trabajos realizados por otros investigadores, como Bergmann *et al.*, 1999; Grossmann *et al.*, 1999; Glaab y Kaiser, 1999, también han revelado que el pyraclostrobin una vez absorbido por la planta, produce un efecto estimulador en su fisiología y metabolismo, que se traduce en aumento del crecimiento, independientemente de los beneficios derivados del efecto sobre el control del hongo patógeno (Bergmann *et al.*, 1999; Grossmann *et al.*, 1999; Glaab y Kaiser, 1999).

En opinión de Köehle *et al.*, 1997 y de Glaab y Kaiser 1999, además de sus efectos fungicidas, las estrobilurinas como el pyraclostrobin, pueden ocasionar cambios de largo alcance en el metabolismo y crecimiento de la planta tratada, que resultan en mayor biomasa y rendimiento agronómico. Por ejemplo, se han observado aumentos en la actividad de la nitrato reductasa en plantas que han sido tratadas con pyraclostrobin (Glaab y Kaiser, 1999) y también se ha observado que las estrobilurinas producen alteraciones en los niveles de varias fitohormonas y retraso en los procesos de senescencia (Grossmann y Retzlaff, 1997).

Tomando en consideración lo expuesto en los párrafos anteriores y en virtud de que el fungicida Opera® y otros fungicidas del grupo QoI, han sido considerados recientemente una opción para el control de enfermedades fúngicas en maíz y muchos otros cul-

control of diseases. Researches performed by other authors such as Bergmann *et al.*, 1999; Grossmann *et al.*, 1999; Glaab and Kaiser, 1999, have also revealed that pyraclostrobin once observed by the plant, it produces a stimulating effect on its physiology and metabolisms, translated in an increment of its growing, independently from the benefits derived of the effect on the control of the pathogenic fungus (Bergmann *et al.*, 1999; Grossmann *et al.*, 1999; Glaab and Kaiser, 1999).

According to Köehle *et al.*, 1997 and Glaab and Kaiser 1999, strobilurines such as pyraclostrobin, besides of having a fungicide effect, these may cause long-term changes in the metabolisms and growth of the treated plant, which result in higher biomass and agronomic yield. For illustrating this, increments in the activity of nitrate reductase have been observed in plants treated with pyraclostrobin (Glaab and Kaiser, 1999), also, it has been observed that strobilurins produce alterations in some phytohormones and delay in the senescence processes (Grossmann and Retzlaff, 1997).

Considering the latter, and since Opera® fungicide and other fungicides belonging to QoI, these have recently been considered an option for controlling fungi diseases in maize and many other crops, besides their beneficial physiological advantages these have (Bartlett *et al.*, 2002). The aim of the current research was to evaluate this fungicide on the physiology of the maize plant under controlled greenhouse conditions and in absence of diseases.

tivos, además de sus propuestos beneficios fisiológicos adicionales a su eficacia de control (Bartlett *et al.*, 2002), el presente trabajo tuvo por objeto evaluar el efecto de este fungicida sobre la fisiología de la planta de maíz bajo condiciones controladas de umbráculo y en ausencia de enfermedades.

## Materiales y métodos

### Ubicación del ensayo.

El ensayo se ubicó en un cobertizo (umbráculo) con techo de fibra de vidrio transparente traslúcido y paredes de tela metálica de malla anti-mosquitos. En cada recipiente plástico de color marrón oscuro, opaco a la luz, se colocaron 8 kg de suelo de textura franco arenosa, fertilizado ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ : 120 N, 50  $\text{P}_2\text{O}_5$ , 40  $\text{K}_2\text{O}$ ) y previamente desinfectado con Basamid® granulado. Una vez que se disiparon los residuos de Basamid (7 días después), se sembraron 4 semillas del híbrido de maíz blanco H2020. A los 4 días de emergencia se realizó un raleo selectivo para dejar una sola planta sana por recipiente, colocados sobre mesones de 1m de altura. Desde el inicio del ensayo se utilizó un cronograma de riego cada 24 horas con agua de chorro, con la finalidad de mantener un status hídrico apropiado y no estresante para el crecimiento de las plantas durante el período experimental. En vista de que dentro de un cobertizo con techo de fibra de vidrio pudiera haber potenciales y mínimas diferencias en luminosidad y temperatura entre distintas posiciones, a lo largo del periodo diurno, se implementó un cronograma de redistribución de los recipientes aleatoriamente cada 48 horas dentro

## Materials and methods

### Location of the research

The research was carried out in a threshold with a clear fiber glass roof and metallic-fabric walls with anti-fliers net. 8kg of sandy soil and fertilized were added ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ : 120 N, 50  $\text{P}_2\text{O}_5$ , 40  $\text{K}_2\text{O}$ ) in each plastic dark brown containers, which were previously disinfected with grained Basamid®. Once dissipated the residues of Basamid (7 days later), 4 seeds of white maize H2020 were sowed. 4 days after the emergency, selective thinning was performed with the purpose of leaving one healthy plant per container, put on 1m of height masons. Since the beginning of the research, an irrigation chronogram was proposed every 24 hours with tap water, with the aim of keeping an adequate water status without causing stress in the plant during the experimental phase. A redistribution chronogram was implemented at random every 48 hours inside the threshold and since the beginning until the end of the experiment, considering that inside a threshold with fiber glass roof there could be potential and minimum lighting and temperature differences among the positions during the morning cycle. The evaluated treatments are shown on table 1.

### Experimental design and statistical procedures

A split-plot design with six replications per treatment was used, including the absolute witness and the untreated witness. The data of the evaluated variables was submitted to the suppose testing of ANAVA. For the parametric distributions was used the

del cobertizo, desde el inicio hasta el final del experimento. Los tratamientos evaluados se muestran en el cuadro 1.

### Diseño experimental y procedimientos estadísticos

Las unidades experimentales se distribuyeron en el área experimental del umbráculo de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado, con un total de 6 repeticiones por cada tratamiento, incluyendo al testigo absoluto no tratado. Los datos de las variables evaluadas fueron sometidos a la comprobación de los supuestos del ANAVA. Para las distribuciones paramétricas se utilizó ANAVA paramétrico de una vía, mientras que para las variables que no se ajustaron a la normalidad, se empleó ANAVA por rangos de Kruskal-Wallis. Para los análisis es-

one-way ANAVA, while for the variables that did not adjust to the normality was employed ranks ANAVA of Kruskal-Wallis. For the statistical analyses was used the Statistics StatSoft® software, version 6 (<http://www.statsoft.com>).

### Application of the treatments

When the plants reached the phenologic phase V4 (18 days old) one application was applied of the different doses (table 1) of the formula Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) and only one dose of the commercial witness (Onix®, 800 mL.ha<sup>-1</sup>).

### Evaluated variables

#### a) Photosynthetic rate

The net photosynthetic rate was determined in the medium portion of the mature completely extended leaf,

**Cuadro 1. Tratamientos evaluados en el ensayo experimental para estudiar el efecto del fungicida Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) sobre algunas características morfo-métricas y fisiológicas de la planta de maíz (*Zea mays* L).**

**Table 1. Evaluated treatments in the experimental research to study the effect of Opera® fungicide (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) on some morph-metric and physiological characteristics of the maize plant (*Zea mays* L).**

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Dosis*PC (mL.ha <sup>-1</sup> )
1	Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole)	400
2	Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole)	500
3	Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole)	600
4	Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole)	700
5	Onix® (Carbendazín + Propiconazole)	800
6	Testigo absoluto (ninguna aplicación de fungicida)	.....

Opera®: Suspensión Concentrada (133g i.a L<sup>-1</sup> de Pyraclostrobin; 50g i.a L<sup>-1</sup> de Epoxiconazole)

Onix®: 125 g. i.a. L<sup>-1</sup> de Benzimidazol; 125 g. i.a. L<sup>-1</sup> de Propiconazole

\*PC: producto comercial

tadísticos se utilizó el programa Statistics StatSoft®, versión 6 (<http://www.statsoft.com>).

### **Aplicación de los tratamientos**

Cuando las plantas alcanzaron el estado fenológico V4 (18 días de edad), se realizó una sola aplicación de las diferentes dosis (cuadro 1) de la formulación Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) y la dosis única del testigo comercial (Onix®, 800 mL.ha<sup>-1</sup>).

#### **Variables evaluadas**

##### **a) Tasa fotosintética**

La tasa fotosintética neta se determinó en la porción media de la hoja madura completamente expandida, más cercana y por debajo de la hoja bandera de plantas intactas (Fagan *et al.*, 2010). Estas mediciones se realizaron cuando las plantas del testigo no tratado alcanzaron el estado fenológico V6 (25 días de edad de la planta y 7 días después de la aplicación de las dosis fungicidas), o sea a los dos estadios fenológicos posteriores al momento de la aplicación de los tratamientos. Para estas mediciones se usó un sistema de intercambio gaseoso del tipo AIRG (Analizador Infrarrojo de Gases) marca Li-cor modelo LI-6400 (Li-cor®). Se realizaron seis mediciones de la tasa fotosintética por tratamiento, una en cada repetición. Los resultados fueron expresados como  $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Para el momento en que se realizaron las mediciones de la tasa de fotosíntesis, la radiación fotosintéticamente activa (RFA) fuera del cobertizo, a plena exposición solar en horas del mediodía (12:00 m) fue de  $1800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ seg}^{-1}$  mientras que dentro del cobertizo, a la altura de la planta, fue de  $450 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ seg}^{-1}$ .

the one closer to the flag leaf from intact plants (Fagan *et al.*, 2010). These measures were done when the plants of the untreated witness reached the phenologic phase V6 (25 days old of the plant and 7 days after the application of the fungicide dose), that is, after two phenologic phases of applied the treatments.

For these measures, a gas-interchange system AIRG type was used (Infrared Gas Analyzer) Li-cor brand, model LI-6400 (Li-cor®). Six measurements of the photosynthetic rate per treatments were performed, one on each replication. The results were expressed as  $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . At the moment of measuring the photosynthesis rate, the photosynthetically active radiation (FAR) out of the threshold with sun exposure at 12:00 pm was  $1800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ , meanwhile, inside the threshold at the height's plant was of  $450 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ .

To overcome the variations of radiant energy caused by randomized cloudiness patterns during the measures and to standardized the incident FAR on the plants, the sampled leaf was put on the foliar chamber of AIRG for 60 seconds, acting on it a photosynthetically active radiation (FAR) equal to  $1400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  coming from a light unit (LED) incorporated to the foliar chamber in the same gas interchange measurement equipment.

Likewise, trying to equalize the environment temperatura inside the threshold during measurements, these were taken from 12 pm until two o'clock (2:00 pm), considering to choose the experimental units at random to

Para obviar las variaciones de energía radiante causadas por patrones aleatorios de nubosidad durante el lapso de las mediciones y estandarizar la RFA incidente sobre las plantas, la hoja muestreada se colocó en la cámara foliar del AIRG por un período de 60 segundos, haciendo incidir sobre ella una radiación fotosintéticamente activa (RFA) equivalente a  $1400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , proveniente de una unidad de luz (LED) incorporada a la cámara foliar en el mismo equipo de medición de intercambio gaseoso. Igualmente, para uniformizar en lo posible la temperatura ambiente dentro del cobertizo durante el lapso de las mediciones, estas se realizaron entre las 12 del mediodía (12:00 m) y las 2 de la tarde (2:00 pm), tomando la precaución de realizar la escogencia de las unidades experimentales en forma totalmente aleatoria para repartir el error entre todos los tratamientos. También se tomó la previsión de realizar un riego hasta saturación en las unidades experimentales a las 6:00 pm del día anterior a la toma de las mediciones, para de esta manera garantizar que no hubiera interferencia como consecuencia del cierre estomático por déficit hídrico al momento de las mediciones.

### **b) Contenido relativo de clorofila (SPAD)**

Para la medición del contenido relativo de clorofila en la hoja se utilizó un medidor portátil de clorofila (Minolta SPAD 502). El medidor de clorofila SPAD 502 mide instantáneamente la cantidad (grado de verdor) relativa de clorofila. Para la obtención de los valores de clorofila se utilizó la misma hoja donde se midió la tasa de fotosíntesis. Todas las mediciones se realizaron con el mismo equipo SPAD

even the error among all the treatments. It was also considered to irrigate until saturation all the experimental units at 6:00 pm the day before the measurements, with the aim of guaranteeing that there were not any consequences of stomatic closure by water deficit at the moment of the measurement process.

### **b) Relative content of chlorophyll (SPAD)**

For measuring the relative content of chlorophyll in the leaf, a portable measurer of chlorophyll was used (Minolta SPAD 502). The chlorophyll measurer SPAD 502 measures instantly the relative quantity (green degree) of chlorophyll. For obtaining the chlorophyll values, it was used the same leaf where the photosynthesis rate was measured. All the measurements were performed with the same SPAD 502 equipment, to avoid the inherent variability in the sensitivity of different instruments. 6 chlorophyll measures were done on each treatment and replication, in the medium portion of the leaf (three measurements on each side of the central nerves) and the average of these three readings represented the SPAD value of such experimental unit.

The readings were taken the same day where the measurements of the photosynthesis rate were done, that is, on phase V6 of the untreated witness, 25 days old of the plant and 7 days after the application of the fungicide dose.

### **c) Number of leaves, total foliar area, dry biomass of the aerial part and dry biomass of the root system**

A los 25 días de edad de las plantas, inmediatamente después de las



502, para evitar la variabilidad inherente en la sensibilidad de instrumentos diferentes. En cada tratamiento y replicación, se realizaron 6 mediciones de clorofila en la porción media de la hoja (tres mediciones a cada lado de la nervadura central) y el promedio de estas tres lecturas representó el valor SPAD de dicha unidad experimental. Las lecturas se tomaron el mismo día que se tomaron las mediciones de la tasa de fotosíntesis, coincidente con el estadio V6 del testigo no tratado, 25 días de edad de la planta y 7 días después de la aplicación de las dosis de fungicidas.

### **c) Número de hojas, área foliar total, biomasa seca de la parte aérea y biomasa seca del sistema radicular**

A los 25 días de edad de las plantas, inmediatamente después de las mediciones de la tasa de fotosíntesis y contenido relativo de clorofila, se contó el número de hojas por planta y luego se hizo un muestreo destructivo para separar órganos aéreos y sistema radicular. Se determinó el área foliar total de cada planta con un medidor automático de área foliar marca Hayashi Denkoh, modelo AAM-7. Para la determinación de la biomasa las muestras se colocaron en una estufa a 60°C por 72 horas y se pesaron en una balanza digital, marca Ainsworth, modelo 300.

## **Resultados y discusión**

### **Efecto de Opera® sobre el contenido relativo de clorofila**

En la figura 1, se observa el contenido relativo de clorofila (unidades SPAD) de plantas de maíz de 25 días

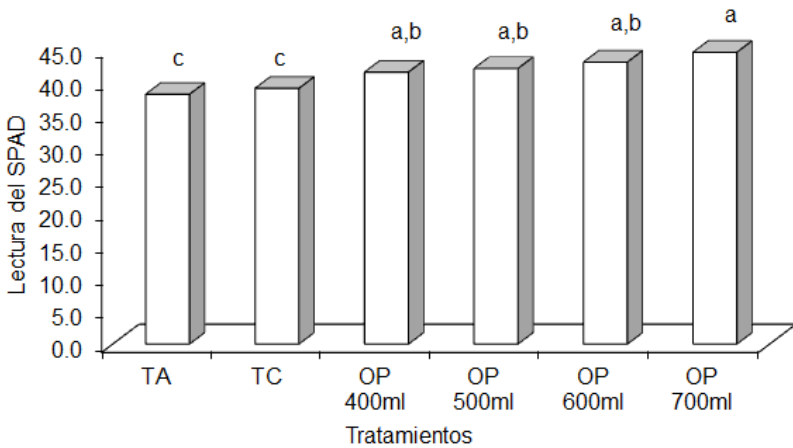
mediciones de la tasa de fotosíntesis y contenido relativo de clorofila, se contó el número de hojas por planta y luego se hizo un muestreo destructivo para separar órganos aéreos y sistema radicular. Se determinó el área foliar total de cada planta con un medidor automático de área foliar marca Hayashi Denkoh, modelo AAM-7. Para la determinación de la biomasa las muestras se colocaron en una estufa a 60°C por 72 horas y se pesaron en una balanza digital, marca Ainsworth, modelo 300.

The number of leaves per plant was counted and a destructive sampling was carried out to divide aerial organs and the root system, when the plants were 25 days old, and immediately after the photosynthesis measurement rate and the relative chlorophyll content. The total foliar area of each plant was determined with an automatic foliar measurer brand Hayashi Denkoh, model AAM-7. For determining the biomass, the samples were put on a stove at 60°C, for 72 hours, and were weighted on a digital weight, Ainsworth brand, model 300.

## **Results and discussion**

### **Effect of Opera® on the relative chlorophyll content**

In figure 1 is observed the relative chlorophyll content (SPAD units) of 25-day-old maize plants (V6), which were applied 7 days before (V4), in only one application per treatment, different doses of fungicide Opera®, a dose of the commercial witness (TC. Onix®) and pure water (AW: absolute witness, untreated). The results allow inferring that there was a defined



**Figura 1. Contenido relativo de clorofila de plantas de maíz híbrido H2020 de 25 días de edad, tratadas 7 días antes con diferentes dosis del fungicida Opera® y una dosis de un testigo comercial (TC: Onix®). TA: testigo no tratado. Barras identificadas con la misma letra no difieren para  $P \leq 0,05$ .**

**Figure 1. Chlorophyll relative content of the 25-day-old hybrid maize plant H2020, treated 7 days before with different doses of the Opera® fungicide and a dose of the commercial witness (CW: Onix®). AW: untreated witness. Bars identified with the same letters do not differ for  $P \leq 0.05$ .**

de edad (V6) a las cuales se les aplicó 7 días antes (V4), en una sola aplicación por tratamiento, diferentes dosis del fungicida Opera®, una dosis del testigo comercial (TC: Onix®) y agua pura (TA: testigo absoluto, no tratado).

Los resultados permiten inferir que hubo una tendencia definida de mayores contenidos relativos de clorofila a medida que aumentó la dosis del fungicida Opera® desde 400 a 700 mL.ha<sup>-1</sup>, pero sin diferencias significativas entre dosis. De igual manera se observó que los menores contenidos relativos de clorofila se presentaron en el testigo no tratado y en el testigo comercial (Onix®: 800 mL.ha<sup>-1</sup>) no ha-

tendency of having higher relative chlorophyll contents at the time that increased the dose of the fungicide Opera® from 400 to 700 mL.ha<sup>-1</sup>, but without significant differences among doses. Likewise, it was observed that the lowest relative chlorophyll contents obtained were presented in the untreated witness and the commercial witness (Onix®: 800 mL.ha<sup>-1</sup>) without significant differences among them, but both were statistically inferior to treatments with Opera®

When these results are compared to the others obtained by different researches, it could be inferred that the highest relative chlorophyll content in

biendo diferencias significativas entre ellos, pero ambos fueron estadísticamente inferiores a los tratamientos con Opera®.

Cuando se comparan los resultados reportados por otros investigadores, con los obtenidos en el presente trabajo, se pudiera inferir que el mayor contenido relativo de clorofila en las hojas de las plantas del maíz híbrido H2020 tratadas con Opera® pudiera estar asociado a un efecto de retardo en la degradación de la molécula de clorofila. En efecto, la acción anti-senescencia de las estrobilurinas ha sido ampliamente sustentada por Balardin, *et al.*, 2011; Gold y Leinhos, 1995; Grossmann y Retzlaff, 1997 y Xu y Huang, 2009. Por otra parte, Grossmann y Retzlaff 1997, trabajando con plantas de trigo, reportaron que la aplicación de  $10^{-4}$  M kresoxim-methyl, un fungicida estrobilurina, inhibió la actividad del etileno hasta en un 50% y produjo 160% de aumento en la concentración de la citocinina dihidrozeatina ribosido. El etileno es el principal responsable por la aceleración de la senescencia, es responsable de la expresión génica de la síntesis de enzimas como clorofilasa (cataliza la degradación de la clorofila), de la celulasa (degradación de la pared de celulosa) y de las enzimas pectolíticas (degradación de las pectinas de la pared celular). Por lo tanto, estos procesos de inhibición de etileno y aumento de la concentración de citocininas, están directamente relacionados con el retardo de la senescencia foliar (Xu y Huang, 2009). Por otra parte, Grossmann y Retzlaff 1997, también encontraron que después de exponer discos de hojas de tri-

leaves of hybrid maize plants H2020 treated with Opera® might be related to a delay effect in the degradation of the chlorophyll molecule. Actually, the anti-senescence action of strobilurins has been supported by Balardin, *et al.*, 2011; Gold and Leinhos, 1995; Grossmann and Retzlaff, 1997 and Xu and Huang, 2009. On the other hand, Grossmann and Retzlaff 1997, when working with wheat plants, reported that the application of  $10^{-4}$  M kresoxim-methyl, a strobilurin fungicide, inhibited the ethylene activity until 50% and produced an increment of 160% in the concentration of dihydrozeatin riboside cytokinin. Ethylene is the main responsible of senescence acceleration, as well as the gene expression of the enzyme synthesis as chlorophyll (catalyzes the degradation of chlorophyll), the cellulose (degradation of the cellulose wall) and the pectolytic enzymes (pectin degradation of the cellular wall). Therefore, these inhibitory processes of ethylene and the increment in the concentration of cytokinins are directly related to the delay of the foliar senescence (Xu and Huang, 2009). On the other hand, Grossmann and Retzlaff 1997, also found that after exposing wheat leaves to pyraclostrobin for 48 hours, there was a reduction in the chlorophyll lost at the time that increased the concentration of strobilurin, with a maximum delay of foliar senescence equal to 82% of chlorophyll content in the discs treated with  $10^{-4}$  M of pyraclostrobin, compared to the untreated witness.

The response on the senescence delay at high doses of pyraclostrobin

go a la acción de pyraclostrobin durante 48 horas, hubo una disminución en la pérdida de clorofila a medida que fueron aumentando la concentración de la estrobilurina, con un máximo de retardo de la senescencia foliar, equivalente a 82% de mayor contenido de clorofila en los discos tratados con  $10^{-4}$  M de pyraclostrobin, en comparación al testigo no tratado.

La respuesta en el retardo de la senescencia a dosis crecientes de pyraclostrobin, tiene una alta correlación con la disminución de los niveles de precursores de etileno como ACC sintasa y ACC oxidasa y el aumento de la auxina natural AIA (Taiz y Zeiger, 2004). El etileno es una hormona natural de las plantas que ha sido involucrada en la degradación de la clorofila, por consiguiente cualquier sustancia que inhiba su actividad puede retrasar la degradación de la clorofila (Gold y Leinhos, 1995; Grossmann y Retzlaff, 1997). Los investigadores Grossmann *et al.*, 1999; Jabs *et al.*, 2002; y Köhle *et al.*, 2002, también han reportado que pyraclostrobin aumenta la producción de las enzimas superóxido dismutasa y peroxidasa en trigo, ambas enzimas están involucradas en procesos anti-senescencia de tejidos vegetales.

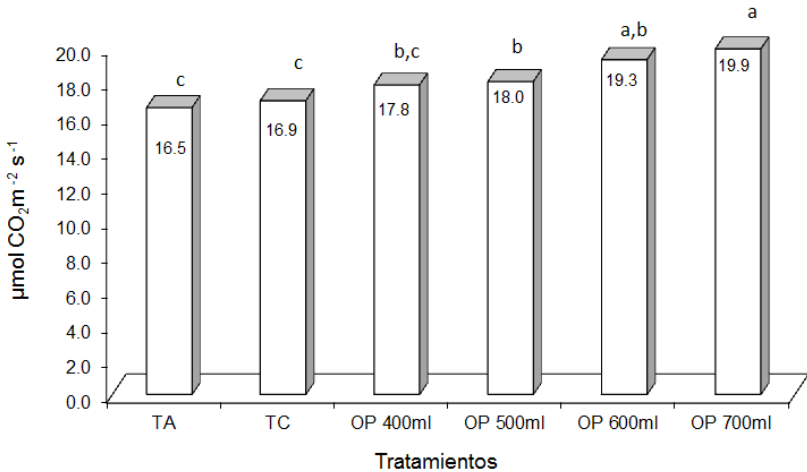
### **Efecto de Opera<sup>®</sup> sobre la tasa de fotosíntesis**

El efecto de los tratamientos de Opera<sup>®</sup> sobre la tasa fotosintética de plantas de maíz en comparación al testigo comercial Onix<sup>®</sup> y al testigo no tratado, se observa en la figura 2. En estos resultados se aprecia que a medida que se fue incrementando la dosis de Opera<sup>®</sup> en el rango de 400 a 700 mL.ha<sup>-1</sup>, hubo un aumento concomi-

te highly related to a reduction on the ethylene levels, such as ACC synthase and ACC oxidase, and the increment of the natural auxin AIA (Taiz and Zeiger, 2004). Ethylene is a natural hormone of plants that has been involved in the degradation of chlorophyll; consequently, any substance that inhibits its response might delay the degradation of chlorophyll (Gold and Leinhos, 1995; Grossmann and Retzlaff, 1997). Grossmann *et al.*, 1999; Jabs *et al.*, 2002; and Köhle *et al.*, 2002, have also reported that pyraclostrobin also increases the production of the enzymes dismutase superoxide and peroxide in wheat, both enzymes are involved in anti-senescence processes of vegetal tissues.

### **Opera<sup>®</sup> effect on the photosynthesis rate**

The effect of Opera<sup>®</sup> treatment on the photosynthesis rate of maize plants compared to the commercial witness Onix<sup>®</sup> and the untreated witness is observed in figure 2. In these results is seen that at the time that increased the Opera<sup>®</sup> dose in the rank from 400 to 700 mL.ha<sup>-1</sup>, there was a concomitant increment in the photosynthesis rate. There were not significant differences on the doses from 700 to 600 mL.ha<sup>-1</sup>, but there was statistical difference when comparing the treatment 700 mL.ha<sup>-1</sup>, with the dose of 400 and 500 mL.ha<sup>-1</sup>. Likewise, it was observed that the photosynthesis rates in Opera<sup>®</sup> treatments over 400 mL.ha<sup>-1</sup> were significantly superior to the commercial witness and the untreated witness, without differences among the last two mentioned or with 400 mL.ha<sup>-1</sup> of Opera<sup>®</sup>.



**Figura 2.** Tasa de fotosíntesis neta ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) de plantas de maíz híbrido H2020 de 25 días de edad, tratadas 7 días antes con diferentes dosis del fungicida Opera® y una dosis de un testigo comercial (TC: Onix®). TA: testigo no tratado. Barras identificadas con la misma letra no difieren para  $P \leq 0,05$ .

**Figure 2.** Net photosynthesis rate ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) of the 25-day-old hybrid maize plant H2020, treated 7 days before with different doses of the Opera® fungicide and a dose of the commercial witness (CW: Onix®. AW: untreated witness. Bars identified with the same letters do not differ for  $P \leq 0.05$ .

tante de las tasas de fotosíntesis. No hubo diferencias significativas entre las dosis de 700 y 600 mL.ha<sup>-1</sup>, pero si hubo significancia estadística al compararse el tratamiento de 700 mL.ha<sup>-1</sup>, con las dosis de 400 y 500 mL.ha<sup>-1</sup>. Se observó igualmente que las tasas de fotosíntesis en los tratamientos de Opera® por encima de sobre 400 mL.ha<sup>-1</sup> fueron significativamente superiores al testigo comercial y al testigo no tratado, no existiendo diferencias entre estos dos últimos ni con respecto a los 400 mL.ha<sup>-1</sup>, de Opera®.

El efecto estimulante del Pyraclostrobin sobre la fotosíntesis del maíz, observado en el presente trabajo, también ha sido reportado por otros

The stimulating effect of Pyraclostrobin on the maize photosynthesis observed in the current research has also been reported by other authors in other crops, such as wheat (Beck *et al.*, 2002; Bryson *et al.*, 2000; Dimmock and Gooding. 2002 and Grossmann and Retzlaff. 1997) soy (Fagan *et al.*, 2010). Fagan *et al.*, 2010, with pyraclostrobin applications in soy under field conditions, the treatments consisted on an absolute witness (T1), two applications (T2) of pyraclostrobin in phases R1 and R5.1 at doses of 500 mL.ha<sup>-1</sup>, and a commercial witness (T3: tebuconazole at a reason of 500 mL.ha<sup>-1</sup>, in phases R1 and R5.1). Based on the results,

investigadores en otros cultivos, como el trigo (Beck *et al.*, 2002; Bryson *et al.*, 2000; Dimmock y Gooding, 2002 y Grossmann y Retzlaff, 1997) y la soya (Fagan *et al.*, 2010). En el trabajo de Fagan *et al.*, 2010, con aplicaciones de pyraclostrobin en soya, en condiciones de campo, los tratamientos consistieron de un testigo absoluto (T1), dos aplicaciones (T2) de pyraclostrobin en los estadios R1 y R5.1 en dosis de 500 mL.ha<sup>-1</sup>, y un testigo comercial (T3: tebuconazol a razón de 500 mL.ha<sup>-1</sup>, en los estadios R1 y R5.1). En base a los resultados, concluyeron que el efecto estimulante de pyraclostrobin sobre la fotosíntesis en soya fue inmediato, ya que a las 3 horas después de la primera aplicación las plantas tratadas manifestaron tasas de fotosíntesis que fueron 3% y 10% mayores al T1 y T3 respectivamente. Igualmente reportaron que dichas diferencias fueron más acentuadas a los 7 días después de la aplicación, con incrementos de 17% y 56% con respecto al T1 y T3 respectivamente. Por su parte, Grossmann y Retzlaff 1997, reportaron que en plantas de trigo tratadas con pyraclostrobin, se produjo una inhibición transitoria de la respiración, de forma tal que los aumentos de fotosíntesis neta en estas plantas estuvieron asociados a alteraciones en el punto de compensación del CO<sub>2</sub>, lo que favoreció su absorción y disminuyó su liberación por respiración. Estos mismos autores reportaron que las estrobilurinas inhiben la biosíntesis de etileno mediante la reducción de la actividad de la enzima 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC sintasa), lo cual retarda la senescencia foliar y consecuentemen-

those authors concluded that the stimulating effect of pyraclostrobin on the soy photosynthesis was immediate, since 3 hours after the first application; the treated plants showed photosynthesis rates 3% to 10% higher in T1 and T3, respectively. Likewise, they reported that such differences were more marked 7 days after the application, with increments of 17% and 56% in T1 and T3, respectively. On the other hand, Grossmann and Retzlaff 1997, reported that in wheat plants treated with pyraclostrobin, was produced a breathing transitory inhibition; therefore, the increments of net photosynthesis in these plants were related to compensatory alterations of CO<sub>2</sub>, which favored its absorption and reduced its release by breathing. The same authors reported that strobilurin inhibit the ethylene biosynthesis reducing the activity of the enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC synthase), which delays the foliar senescence, consequently, extends the duration of the photosynthetically active tissue.

**Opera® effect on the morphometric variables, number of leaves, total foliar area, dry biomass of the aerial part, dry biomass of the root of the maize hybrid plant H2020**

The fungicide Opera® effect on the number of leaves, total foliar area, dry biomass of the aerial part, dry biomass of the root of the maize hybrid plant H2020 are shown on figures 3, 4, 5 and 6 respectively. Such figures are only contrasted by the morph-metric responses of Opera® treatment 700 mL.ha<sup>-1</sup>, versus the commercial treatment (TC: Onix®: 800 mL.ha<sup>-1</sup>,

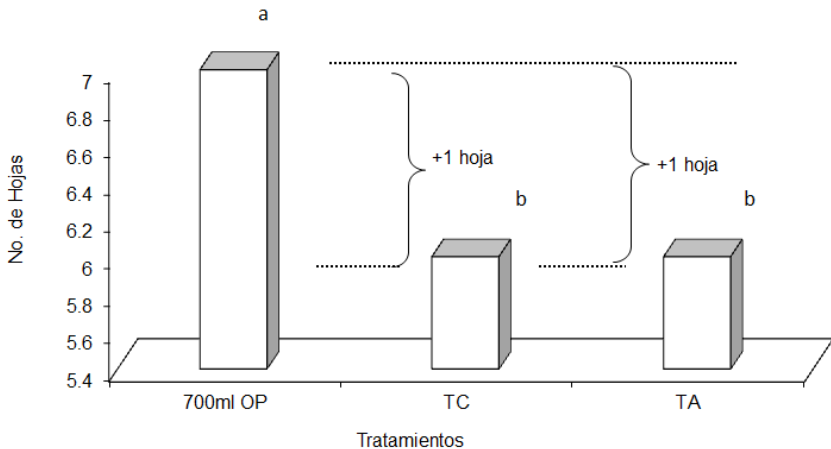
te prolonga la duración del tejido fotosintéticamente activo.

**Efecto de Opera® sobre las variables morfométricas, número de hojas, área foliar total, biomasa seca de parte aérea y biomasa seca de raíz, de la planta de maíz, híbrido H2020.**

Los efectos del fungicida Opera® sobre el número de hojas, área foliar total, biomasa seca de parte aérea y biomasa seca de raíces, de las plantas de maíz híbrido H2020, se muestran en las figuras 3, 4, 5 y 6 respectivamente. En dichas figuras se contrastan únicamente las respuestas morfométricas del tratamiento Opera®, 700 mL.ha<sup>-1</sup>, versus el testigo comercial

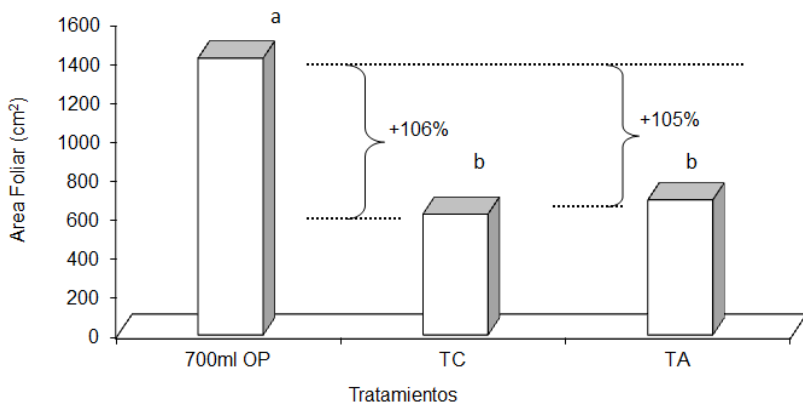
and the absolute untreated treatment (AT), since there was not any difference regarding the effect on the variables under the experimental conditions and the different doses of Opera®.

The complete response study of the morph-metric variables (figures 3, 4, 5 and 6) suggests that fungicide Opera® produced in the maize plant a stimulating effect on the plant's growth, translated to significant increments in the number of leaves, total foliar area and dry biomass of the aerial part and roots. On the other hand, when the results of the effect on the number of leaves and the foliar area are compared (figure 3 and figure 4)



**Figura 3. Número de hojas de plantas de maíz híbrido H2020 de 25 días de edad, tratadas 7 días antes con 700 mL.ha<sup>-1</sup>, del fungicida Opera®, versus plantas de un testigo comercial (TC: Onix®, 800 mL.ha<sup>-1</sup>) y un testigo absoluto no tratado (TA). Barras identificadas con la misma letra no difieren para P≤0,05.**

**Figure 3. Number of leaves of 25-day-old hybrid maize plant H2020, treated 7 days before with 700 ml. ha<sup>-1</sup>, of the fungicide Opera®, versus plants of a commercial witness (CW: Onix®, 800 ml. ha<sup>-1</sup>) and an absolute untreated witness (AW). Bars identified with the same letters do not differ for P≤0.05.**



**Figura 4.** Área foliar de plantas de maíz híbrido H2020 de 25 días de edad, tratadas 7 días antes con 700 mL.ha<sup>-1</sup>, del fungicida Opera<sup>®</sup>, versus plantas de un testigo comercial (TC: Onix<sup>®</sup>, 800 mL.ha<sup>-1</sup>) y un testigo absoluto no tratado (TA). Barras identificadas con la misma letra no difieren para P≤0,05.

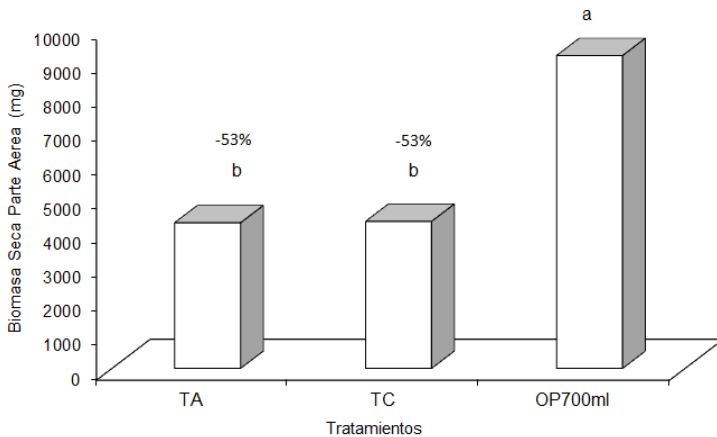
**Figure 4.** Foliar area of 25-day-old hybrid maize plant H2020, treated 7 days before with 700 mL.ha<sup>-1</sup>, of the fungicide Opera<sup>®</sup>, versus plants of a commercial witness (CW: Onix<sup>®</sup>, 800 mL.ha<sup>-1</sup>) and an absolute untreated witness (AW). Bars identified with the same letters do not differ for P≤0.05.

(TC: Onix<sup>®</sup>: 800 mL.ha<sup>-1</sup>, y el testigo absoluto (TA) no tratado, debido a que bajo las condiciones del experimento entre las diferentes dosis de Opera<sup>®</sup> no hubo ninguna diferencia en cuanto a su efecto sobre estas variables.

El estudio conjunto de las respuestas de las variables morfológicas (figuras 3, 4, 5 y 6) sugiere que el fungicida Opera<sup>®</sup> produjo en la planta de maíz un efecto de estímulo en el crecimiento, que se tradujo en aumentos significativos del número de hojas, del área foliar total y de la biomasa seca de la parte aérea y de las raíces. Por otra parte, cuando se comparan los resultados del efecto sobre el número de hojas y el área foliar (figura 3 versus figura 4) se puede inferir que en el caso particular del presente tra-

can be inferred that in the current research, the highest stimulating impact of Opera<sup>®</sup> was not in the number of leaves, but instead on the dimensions of leaves (length and width). Plants treated with Opera<sup>®</sup> only presented an extra leaf than the untreated and the commercial witness, but the increments in the foliar area were +106% and +105%, in relation to the commercial witness and the absolute witness, respectively. Likewise, in figures 5 and 6 is showed the accumulation of the dry biomass in both the aerial organs and the root, in the plants that received 700 mL.ha<sup>-1</sup>, of Opera<sup>®</sup>, this was remarkable and significantly higher compared to commercial witness plants and absolute witness plants.



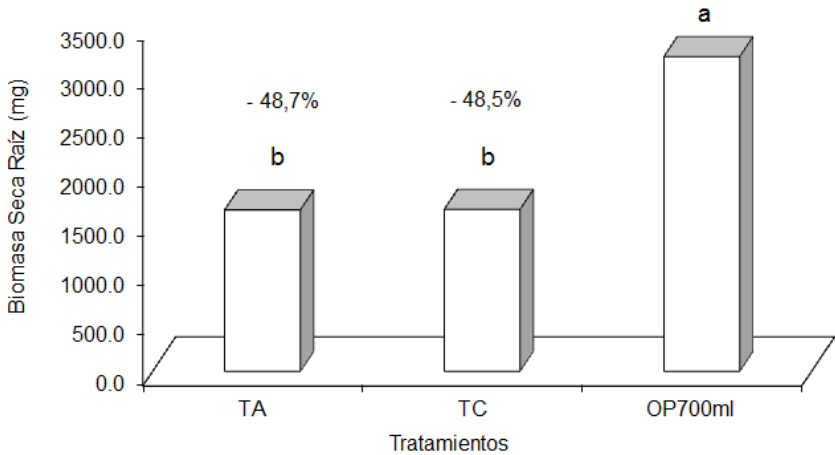


**Figura 5. Biomasa seca de la parte aérea de plantas de maíz híbrido H2020 de 25 días de edad, tratadas 7 días antes con 700 mL. ha<sup>-1</sup>, del fungicida Opera<sup>®</sup>, versus plantas de un testigo comercial (TC: Onix<sup>®</sup>, 800 mL.ha<sup>-1</sup>) y un testigo absoluto no tratado (TA). Barras identificadas con la misma letra no difieren para P≤0,05.**

**Figure 5. Dry biomass of the aerial part of 25-day-old hybrid maize plant H2020, treated 7 days before with 700 mL.ha<sup>-1</sup>, of the fungicide Opera<sup>®</sup>, versus plants of a commercial witness (CW: Onix<sup>®</sup>, 800 mL.ha<sup>-1</sup>) and an absolute untreated witness (AW). Bars identified with the same letters do not differ for P≤0.05.**

bajo, el mayor impacto estimulante de Opera<sup>®</sup> no estuvo en el número de hojas, sino en las dimensiones de las hojas (longitud y anchura). Las plantas tratadas con Opera<sup>®</sup> tuvieron solamente una hoja más que las no tratadas y el testigo comercial, mientras que los aumentos en área foliar fueron de +106% y +105% con respecto al testigo comercial y al testigo absoluto, respectivamente. De igual manera, en las figuras 5 y 6, se aprecia que la acumulación de biomasa seca tanto de los órganos aéreos como de la raíz, en las plantas a las que se aplicó 700 mL.ha<sup>-1</sup>, de Opera<sup>®</sup>, fue apreciable y significativamente mayor, en compa-

The data of the current research is not enough to prove accurately the cause of the pyraclostrobin effect on the morph-metric variables of maize, however, these results are similar to those obtained by other researchers (Brosnan *et al.*, 2010; Grossmann and Retzlaff, 1997; Kohle *et al.*, 2002), who have proposed that the stimulating effect of the root system development observed in different species treated with strobilurin, is due to changes in the phytohormones balance. For illustrating this, Grossmann and Retzlaff, 1997, reported that applications of kresoxim-methyl in wheat plants (*Triticum aestivum* L)



**Figura 6.** Biomasa seca de raíces de plantas de maíz híbrido H2020 de 25 días de edad, tratadas 7 días antes con 700 mL.ha<sup>-1</sup>, del fungicida Opera<sup>®</sup>, versus plantas de un testigo comercial (TC: Onix<sup>®</sup>, 800 mL.ha<sup>-1</sup>) y un testigo absoluto no tratado (TA). Barras identificadas con la misma letra no difieren para P≤0,05.

**Figure 6.** Root dry biomass of 25-day-old hybrid maize plant H2020, treated 7 days before with 700 mL.ha<sup>-1</sup>, of the fungicide Opera<sup>®</sup>, versus plants of a commercial witness (CW: Onix<sup>®</sup>, 800 mL.ha<sup>-1</sup>) and an absolute untreated witness (AW). Bars identified with the same letters do not differ for P≤0.05.

ración a las plantas del testigo comercial y del testigo absoluto.

Los datos del presente trabajo no son suficientes para conocer con exactitud la causa subyacente de este efecto del pyraclostrobin sobre estas variables morfo-métricas del maíz; sin embargo estos resultados guardan similitud con los obtenidos por otros investigadores (Brosnan *et al.*, 2010; Grossmann y Retzlaff, 1997; Kohle *et al.*, 2002), quienes han propuesto que el efecto estimulante del desarrollo del sistema radical, observado en distintas especies que han sido tratadas con estrobilurinas, se debe a cambios en

under hydric deficit stress, produced similar response patterns to those obtained at low doses of natural auxin indole 3acetic acid (AIA) and 2 -(1-naphthyl) acetic acid ( $\alpha$ -NAA). Köhle *et al.*, 2002 have also observed the same response of the auxin (AIA y  $\alpha$ -NAA) applying pyraclostrobin, and mentioned that the reason for this might be that the fungicide is degraded to L- tryptophan, which is the natural precursor of the auxin (AIA). If is considered that auxins increase the development and growth of lateral and adventitious roots in different plant species, then it could be inferred that

los balances de fitohormonas. Por ejemplo, Grossmann y Retzlaff, 1997, reportaron que las aplicaciones de kresoxim-metil en plantas de trigo (*Triticum aestivum* L) bajo estrés por déficit hídrico, produjeron patrones de respuestas similares a los que producen bajas dosis de la auxina natural ácido indol-3- acético (AIA) y de 2-(1-naftil) ácido acético ( $\alpha$ -NAA). Köhler *et al.*, 2002 también observaron el mismo patrón de respuesta de la auxina (AIA y  $\alpha$ -NAA) cuando aplicaron pyraclostrobin, y propusieron que esto podría deberse a que el fungicida es degradado hacia L-triptófano, que es el precursor natural de la auxina (AIA). Si se considera que las auxinas aumentan el desarrollo y crecimiento de raíces laterales y adventicias en diferentes especies de plantas, entonces es posible inferir que las aplicaciones de pyraclostrobin pueden indirectamente contribuir al desarrollo del sistema radical. Por su parte, Brosnan *et al.*, 2010 también observaron que las aplicaciones de pyraclostrobin en el césped *Agrostis stolonifera*, produjo aumento de la longitud, del área superficial, de la densidad, del volumen y de la biomasa total de las raíces en comparación con el control no tratado, y concluyen que el tratamiento con pyraclostrobin indujo una respuesta similar al tratamiento con dosis bajas de IAA y  $\alpha$ -NAA.

El efecto de estímulo de pyraclostrobin sobre las variables morfo-métricas, también puede estar relacionado con los mayores contenidos de clorofila y el aumento de la tasa de fotosíntesis en las plantas tratadas, según se observó en el presente trabajo (figuras 1 y 2); así como también a

aplicaciones de pyraclostrobin might indirectly contribute to the development of the root system. On the other hand, Brosnan *et al.*, 2010, also observed that applications of pyraclostrobin in *Agrostis stolonifera* produced increment on its longitude, the superficial area, the density, volume and the total biomass of the roots compared to the untreated control, and concluded that the treatment with pyraclostrobin induced a similar response to the treatment with low doses of IAA and  $\alpha$ -NAA.

The stimulating effect of pyraclostrobin on the morph-metric variables might also be related to the highest chlorophyll contents and the increment of the photosynthesis rate in treated plants, as observed in the current research (figure 1 and 2); as well as its stimulating effect of the activity of foliar reductase nitrate, reduction of the respiratory rate and delay of the senescence processes, reported in many researches (Balardin *et al.*, 2011; Kaiser and Brendle-Behnisch, 1995; Grossmann and Retzlaff, 1997; Bryson *et al.*, 2000; Grossmann *et al.*, 1999; Dimmock and Gooding, 2002).

## Conclusions

The results of the current research carried out to evaluate the Opera<sup>®</sup> fungicide effect (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) on some morph-metric and physiological variables of maize plant (*Zea mays*, L), showed that this compound, besides of its fungicide action, produced an stimulating effect on the physiological processes of the plant, translated into

su efecto como estimulante de la actividad de la nitrato reductasa foliar, reducción de la tasa respiratoria y retardo de los procesos de senescencia, que han sido reportados en muchos trabajos (Balardin *et al.*, 2011; Kaiser y Brendle-Behnisch, 1995; Grossmann y Retzlaff, 1997; Bryson *et al.*, 2000; Grossmann *et al.*, 1999; Dimmock y Gooding, 2002).

## Conclusiones

Los resultados del presente trabajo para evaluar el efecto del fungicida Opera® (Pyraclostrobin + Epoxiconazole) sobre algunas variables morfo-métricas y fisiológicas de la planta de maíz (*Zea mays*, L), demostraron que este compuesto, independientemente de su acción fungicida, produjo un estímulo en los procesos fisiológicos de la planta, que se tradujo en aumentos significativos de la tasa de fotosíntesis y del contenido de clorofila foliar, así como del número de hojas, el área foliar total y la biomasa seca de los órganos aéreos y del sistema radicular.

## Literatura citada

Ammermann, E., G. Lorenz, K. Schelberger, B. Mueller, R. Kirstgen, y H. Sauter. 2000. BAS 500 F-the new broad-spectrum strobilurins fungicide. p. 541-548. En: Proceedings of the BCPC Conference in Pests and Diseases. BCPC Farnham, Surrey.

Balardin, R.S., F. Dalla Lana, D. Debona, G. Dalla Corte, D. Dalla Favera y N.R. Tormen. 2011. Tratamiento de semillas con fungicidas e insecticidas como reductores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. *Ciência Rural* 41:1120-1126

significant increment of the photosynthesis rate and the foliar chlorophyll content, as well as the number of leaves, the total foliar area and the dry biomass of the aerial organs and the root system.

*End of english version*

---

Bartlett, D.W., J.M. Clough, J.R. Godwin, A.A. Hall, M. Hamer y B. Parr-Dobrzanski. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest. Manag. Sci.* 58:649-662.

Beck, C., Oerke, E.C, y Dehne. H.W. 2002. Impact of strobilurins on physiology and yield formation of wheat. *Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkd Toegep Biol Wet.* 67:181-187.

Bergmann, H., B. Lippmann, V. Leinhos, S. Tiroke, y B. Machelett. 1999. Activation of stress resistance in plants and consequences for product quality. *J. Appl. Bot.* 73:153-161.

Brosnan, J.T., B.J. Horvath, M.T. Elmore, G.K. Breeden y J.C. Sorochan. 2010. Greenhouse Investigation of strobilurin fungicide applications on creeping bentgrass root characteristics under two irrigation regimes. *Crop Sci.* 50:2605-2612.

Bryson, R.J., L. Leandro, y D.R. Jones. 2000. The physiological effects of kresoxim-methyl on wheat leaf greenness and the implications for crop yield. p. 739-746 En: Proceedings of the BCPC Conference on Pests and Diseases. BCPC Farnham, Surrey.

Dimmock, J.P.R.E y M.J. Gooding. 2002. The effects of fungicides on rate and duration of grain filling in winter wheat in relation to maintenance of flag leaf green area. *J. Agr. Sci.* 138:1-16.

Dutzmann, S., A. Mauler-Machnik, F. Kerz-Möhlendick, J. Applegate, y U. Heinemann. 2002. HEC 5725: a novel leaf-syxtemic strobilurin fungicide.

- p. 365-370. En: Proceedings of the BCPC conference on Pests and Diseases. BCPC Farnham. Surrey.
- Fagan, E.B., D.N. Dourado, R. Vivian, R. R.F. Brancher, M.Y. Pizzinato, L.F. Massignam, R.F. De Oliveira, y K.V. Martins. 2010. Efeito da aplicação de piraclostrobina na taxa fotossintética, respiração, atividade da enzima nitrato reductase e produtividade de grãos de soja. *Bragantia*, Campinas. 69:771-777.
- Glaab, J. y W.M. Kaiser. 1999. Increased nitrate reductase activity in leaf tissue after application of the fungicide Kresoxim-methyl. *Planta* 207:442-448.
- Gold, R.E. y G.M. Leinhos. 1995. Fungicidal effects of BAS 490F on the development and fine structure of plant pathogenic fungi. *Pesticide Science*. 43:250-253. Disponible en: <<http://dx.doi.org/10.1002/ps.2780430316>>. Acceso en octubre 15 de 2011.
- Grossman K., J. Kwiatkowski y G. Retzlaff. 1999. Regulation of Phytohormone Levels, Leaf Senescence and Transpiration by the Strobilurin Kresoxim-methyl in Wheat (*Triticum aestivum*). *J. Plant Physiol*. 154:805-808.
- Grossman, K., y G. Retzlaff. 1997. Bioregulatory effects of the fungicide strobilurin kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum*). *Pesticide. Sci*. 50:11-20.
- Jabs T., J. Pfirmann, S. Schafer, Y. X. Wu., y A. Tiedemann. 2002. Anti-oxidative and anti-senescence effects of the strobilurin Pyraclostrobin in plants: A new strategy to cope with environmental stress in cereals. *Conference Proceedings*. Vol 2. of the BPC Conference on Pests and Deseases. BCPC Farnham. Surrey.
- Kaiser, W.M., y E. Brendle-Behnisch. 1995. Acid-basemodulation of nitrate reductase in leaf tissues. *Planta*. 196:1-6.
- Köhle, H., K. Grossmann, T. Jabs, M. Gerhard, W. Kaiser, J. Glaab, U. Conrath, K. Seehaus, y S. Herms. 2002. Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants. p. 61-74. En Dehne, H.W., U. Gisi, K.H. Kuck, P.E. Russell, and H. Lyr (Eds.). *Modern Fungicides and Antifungal Compounds III*. Mann GmbH & Co. Bonn.
- Margot P., F. Huggenberger, J. Amrein, y B. Weiss. 1998. CGA 279202: a new broad-spectrum strobilurin fungicide. p. 375-382. En: Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference. UK British Crop Protection Council. Farnham.
- Taiz L., y E. Zeiger. 2004. *Fisiología Vegetal*. Tercera edición. Artmed. Porto Alegre. 680 p.
- Venancio, W.S., M.A.T. Rodríguez, E. Begliomini, y N.L. de Souza. 2003. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. *Ponta Grossa*. 9:59-68.
- Xu, Y., y B. Huang. 2009. Effects of foliar-applied ethylene inhibitor and synthetic cytokinin on creeping bentgrass to enhance heat tolerance. *Crop Sci*. 49:1876-1884.