

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

CUANTIFICACIÓN DE LOS DESTINOS AMBIENTALES DEL CLOMAZONE Y
SU RELACIÓN CON EL CONTROL DE CAPÍN

por

Pablo FONTES SILVERA

TESIS presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de
Ingeniero Agrónomo.

MONTEVIDEO

URUGUAY

2019

Tesis aprobada por:

Director: -----

Ing. Agr. Dra. Juana Villalba

Q.F. Dra. Natalia Besil

Ing. Agr. Néstor Saldain

Fecha: 19 de diciembre de 2019

Autor: -----

Pablo Fontes Silvera

AGRADECIMIENTOS

A la tutora de tesis Ing. Agr. (PhD.) Juana Villalba y a la cotutora Q.F. (Dra.) Natalia Besil por la dirección de este trabajo, por su tiempo dedicado y por su apoyo en todo momento.

A la Lic. Sofía Rezende por su ayuda en el laboratorio del Departamento de Química del Litoral y a la Lic. Sully Toledo de biblioteca de Facultad de Agronomía por estar disponible ante cualquier duda.

A la Facultad de Agronomía por todo lo que me brindó.

A mi familia y Silvina por su apoyo durante tantos años, ya que no me dejaron bajar los brazos en ningún momento.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	2
2.1. PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS DEL CLOMAZONE....	2
2.2. DINÁMICA AMBIENTAL DEL CLOMAZONE.....	4
2.2.1. <u>Suelo</u>	4
2.2.2. <u>Agua</u>	5
2.2.3. <u>Aire</u>	6
2.3. DEGRADACIÓN DEL CLOMAZONE.....	7
2.3.1. <u>Procesos abióticos</u>	7
2.3.2. <u>Procesos bióticos</u>	8
2.4. ACTIVIDAD EN PLANTA.....	8
2.4.1. <u>Absorción y translocación</u>	8
2.4.2. <u>Sintomatología y sitio de acción</u>	9
2.5. TIPO DE FORMULACIÓN.....	9
2.5.1 <u>Concentrado emulsionable</u>	9
2.5.2 <u>Suspensión micro cápsulas</u>	10

2.6. CARACTERÍSTICAS DE <i>Echinochloa colona</i>	10
2.6.1. <u>Importancia</u>	10
2.6.2. <u>Descripción botánica</u>	11
2.6.3. <u>Ecología de la semilla</u>	11
2.6.4. <u>Control químico</u>	12
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	13
3.1. LOCALIZACIÓN.....	13
3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTOS.....	13
3.3. METODOLOGÍA.....	13
3.3.1. <u>Instalación del ensayo</u>	13
3.3.2. <u>Siembra del capín</u>	14
3.3.3. <u>Aplicación del herbicida</u>	15
3.3.4. <u>Manejo del riego</u>	15
3.4. DETERMINACIONES REALIZADAS.....	16
3.4.1. <u>Muestreo de clomazone en aire</u>	16
3.4.2. <u>Muestreo de clomazone en suelo</u>	17
3.4.3. <u>Cuantificación del control de capín</u>	18
3.5 DETERMINACIONES ANALÍTICAS.....	18
3.5.1. <u>Materiales y reactivos</u>	18
3.5.2. <u>Sistema Instrumental</u>	18
3.5.3. <u>Comazone en muestreadores de aire</u>	19
3.5.4. <u>Clomazone en suelo</u>	19

4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	21
4.1. VOLATILIZACIÓN DE CLOMAZONE.....	21
4.2. CLOMAZONE EN SUELO.....	27
4.3. PORCENTAJE DE CONTROL DE CAPÍN.....	29
5. <u>CONCLUSIONES</u>	33
6. <u>RESUMEN</u>	34
7. <u>SUMMARY</u>	35
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	36

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Propiedades físico-químicas del clomazone.....	3
2. Características del herbicida utilizado.....	15
3. Parámetros instrumentales para el herbicida en estudio.....	19
4. ANOVA. Significancia de los efectos de cada factor sobre la volatilización evaluado en el experimento.....	21
5. Concentraciones medias de clomazone extraído de los muestreadores de polyfon, en los distintos tratamientos.....	23
6. ANAVA. Significancia de los efectos de cada factor sobre el contenido de clomazone en suelo hasta la hora 96.....	29
7. ANAVA. Significancia de los efectos de cada factor sobre la germinación del capín.....	30
Figura No.	
1. Estructura molecular del clomazone.....	2
2. Box de nylon utilizados en el ensayo.....	14
3. Diseño del soporte y posición de los muestreadores de clomazone en aire.....	16
4. Macetas conteniendo los 8 puntos utilizados para estimar el contenido de clomazone en suelo.....	17
5. Volatilización total de clomazone según el tiempo de medición,	

expresado como porcentaje (%).....	22
6. Concentración de clomazone en las esponjas, para ambas formulaciones y condiciones de humedades a la hora 2.....	24
7. Concentración de clomazone en las esponjas para ambas formulaciones y condiciones de humedad estudiadas a la hora 24.....	25
8. Concentración de clomazone en las esponjas para ambas formulaciones y condiciones de humedad a la hora 96.....	26
9. Concentración de clomazone en las esponjas para ambas Formulaciones y condiciones de humedad estudiadas a la hora 120.....	27
10. Concentración de clomazone en las esponjas para las dos formulaciones en todos los tiempos de evaluación acumuladas, en condición de humedad seco.....	27
11. Concentración de clomazone en las esponjas para las dos formulaciones en todos los tiempos de evaluación acumuladas, en condicion de humedad saturado...	28
12. Contenido de clomazone en suelos en los tiempos de medición utilizados antes del agregado del agua.....	29
13. Plantas emergidas correspondientes a los testigos y a los tratamientos de formulación y niveles de humedad del suelo..	31
14. Germinación en función de los días según formulación	

comparado con el testigo sin agregado de clomazone.....	32
15. Germinación en función de los días para los dos niveles de humedad analizados.....	33

1. INTRODUCCIÓN

Uruguay está entre los 10 mayores exportadores mundiales de arroz. En la zafra 2018/19 la siembra de arroz fue de 145.000 hectáreas, con un rendimiento promedio de 8.276 kg/Ha (MGAP. DIEA, 2019). Este rendimiento muy alto a nivel mundial, se obtiene utilizando el sistema de siembra en seco con inundación.

La producción arrocerera del país basa el control químico de algunas de las principales malezas, como el complejo capín (*Echinochloa* spp.) en el uso del herbicida clomazone. En el país se aplica clomazone solo o en mezcla en un 80 % del área arrocerera (Zorrilla, 2016).

Las características físico-químicas de esta molécula indican un potencial de volatilización considerable, pudiendo este herbicida, en la fase vapor contaminar el ambiente y alcanzar organismos no objetivo (Schreiber et al., 2013). En este sentido, cuando éste es aplicado bajo condiciones de suelo húmedo con alta demanda atmosférica (situación más frecuente en los sistemas de producción de arroz de Uruguay), ocurren procesos de volatilización, siendo una parte de lo aplicado perdida, reduciéndose la dosis efectivamente aplicada. Este efecto y sus implicancias en el control de malezas objetivo es poco conocido para las condiciones del Uruguay.

Este trabajo tiene como objetivo conocer más sobre los destinos del clomazone en el ambiente luego de la aplicación, para dos formulaciones disponibles en el mercado de Uruguay (concentrado emulsionable y suspensión microcápsulas), en situaciones de humedad diferentes, suelo saturado y suelo seco. Además, se evaluó el efecto sobre el control de una maleza problema en la producción de arroz (*Echinochloa colona*).

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL COMAZONE

El clomazone es un herbicida no iónico del grupo químico de las isoxazolidinona, que contiene un anillo cloroaromático (figura No. 1). En su estado puro es un sólido cristalino. A temperatura ambiente es altamente soluble en agua y tiene baja a mediana afinidad por el suelo. Es más denso que el agua y es susceptible a la degradación microbiana. En el cuadro No. 1 se presentan sus propiedades físico-químicas más importantes (BCPC, 2012)

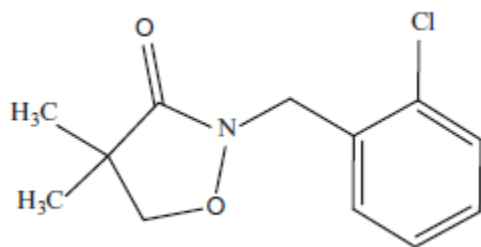


Figura No. 1. Estructura molecular del clomazone

Cuadro No. 1. Propiedades físico-químicas del clomazone

Propiedades físico-químicas de clomazone	Valor
Nombre químico	2-(2-chlorophenyl) methyl-4,4-dimethyl-3-isoxazolidinone
Fórmula molecular	C ₁₂ H ₁₄ ClNO ₂
Peso molecular	239.7
Temperatura de ebullición (°C)	275.4–281.7
Solubilidad en agua a 23 °C	1102 mg/L
Solubilidad en acetonitrilo a 22 °C	≥1000 g/L
Solubilidad en metanol a 25 °C	969 g/L
Presión de vapor a 25 °C	1.44x 10 ⁻⁴ (mmHg)
K _{ow} lowP	2.5
Kh	4.14x10 ⁻⁸ atm.m ³ /mol
Densidad a 20 °C	1.192 g/mL
Kd	1.5–7.4
Koc	139–608

Fuente: modificado de BCPC (2012).

Los productos químicos con alta solubilidad se desplazan a mayores profundidades y tienden a acumularse en sistemas acuáticos. Según Cunha et al. (2010) los productos químicos con solubilidades mayores o superior a 30 mg/L pueden estar sujetos a la lixiviación. Carlomagno (2013) en su tesis de doctorado indica que un pesticida puede alcanzar el agua superficial si su valor de Koc (coeficiente de partición en carbono orgánico) está por debajo de 300–500 mL/g, su Kd (constante de distribución) es menor a 5 mL/g además de su solubilidad en agua mayor a 30 mg/L.

Por lo general los plaguicidas con un índice de presión de vapor menor a 10 mm Hg x 10⁻⁷ tienen un bajo potencial de volatilización (Cunha et al., 2010). La constante de la ley de Henry (Kh) es utilizada para caracterizar la volatilización desde el agua del suelo al aire. Cuanto mayor es este valor mayor será la volatilización. Dado los valores de presión de vapor, peso molecular y

solubilidad en agua, el clomazone tiene un valor de K_h de 4.14×10^{-8} atm.m³ /mol, se esperaría que permanezca en el agua en vez de volatilizarse sin embargo, se ha observado que puede volatilizarse del suelo (Carlomagno, 2013).

2.2. DINÁMICA AMBIENTAL DEL CLOMAZONE

2.2.1. Suelo

Ya que es un herbicida no iónico, el clomazone permanece en su forma molecular en la solución del suelo (Jia et al., 2013). Sin embargo, estos compuestos pueden tener polaridad y, por lo tanto, su disponibilidad puede ser alterada por el pH, la arcilla, complejos minerales y materia orgánica (Silva et al., 2012).

Su K_d es relativamente bajo, por lo que se espera que tenga una afinidad baja a moderada por el suelo.

Los componentes de los suelos que explican en mayor medida la adsorción de la molécula de clomazone es la materia orgánica ya que existe una gran afinidad por los ácidos húmicos del suelo, más que por el contenido de arcilla (Loux et al. 1989, Lee et al. 2004, Gunasekara et al. 2009, Pereira et al. 2016).

Sin embargo, Li et al. (2004) encontraron que la cantidad de clomazone adsorbido no solo se correlacionó significativamente con el carbono orgánico ($R^2 = 0,62$), sino también con el contenido de arcilla ($R^2 = 0,67$).

Eric (2017) realizó un experimento para comparar la adsorción de clomazone entre un suelo de textura franca con otro limo arcilloso. En este trabajo se aplicó 2,2 kg de i.a /ha de clomazone a cada uno de estos suelos. El suelo franco luego de 3 meses presentó niveles de clomazone por debajo de 0,1 mg/kg de suelo. Mientras que en el suelo limo arcilloso se disipó a 0,2 mg/kg a los 6 meses después de la aplicación. Con este resultado se reafirma que en suelos con texturas más finas y a su vez con mayor contenido de materia orgánica retienen más clomazone que aquellos suelos de textura más gruesa y menor contenido de materia orgánica.

A su vez se han constatado diferencias en la adsorción en suelos con distintos grados de humedad. Mervosh et al. (1995b), observaron que el clomazone adsorbido a un suelo limo-arcilloso con humedad disminuyó con respecto al mismo suelo sin humedad.

Este herbicida al tener gran afinidad por la materia orgánica del suelo, a igualdad de humedad un suelo que tenga un mayor contenido de materia orgánica retendrá más clomazone y consecuentemente existirá menos en la solución del suelo para ser absorbido por las plantas.

2.2.2. Agua

Debido a la elevada solubilidad del clomazone en agua y su valor de coeficiente octanol agua (K_{ow}) relativamente bajo es esperable que el clomazone se concentre dentro de la fase acuosa (Van Scoy y Tjerdema, 2014). Por este motivo se genera interés en conocer el impacto de la acumulación de clomazone en cursos de agua, como así también el cuidado que se debe tener para evitar posibles mermas de rendimiento por fitotoxicidad en los cultivos.

En Uruguay, el Reglamento Bromatológico Nacional (Decreto 315/94), establece límites en agua para consumo humano para algunos pesticidas. Aunque no existe normativa específica para el caso de clomazone. Tampoco existe una normativa para el caso de límites de los pesticidas en aguas superficiales (Carlomagno, 2013).

Schreiber et al. (2017) compararon la disipación de clomazone, con otros dos herbicidas también muy utilizados en el cultivo de arroz irrigado: imazapyr e imazapic, en agua de riego de cultivo de arroz. Imazapic fue el herbicida menos persistente, con valores de DT_{50} de aproximadamente 5 días. Imazapyr requirió el doble de este tiempo para alcanzar su vida media, mientras que el clomazone mostró los valores más altos de DT_{50} , que fue de 21 días.

La disipación de clomazone en aguas de inundación fue estudiada también por Quayle et al. (2006). Aplicando clomazone a parcelas de arroz a dosis de $0,5 \text{ L. ha}^{-1}$ (formulado comercial que contiene 480 g/l de i.a.), se produjo una concentración media inicial de $202 \text{ }\mu\text{g/L}$ en el agua. Sin embargo, en el transcurso de 4 días la concentración había disminuido a $83 \text{ }\mu\text{g/L}$, y en 19 días la concentración disminuyó a $3 \text{ }\mu\text{g/L}$. La vida media del clomazone en este

estudio fue de 7,2 días. Además, las aguas liberadas contenían 3 ug/L de clomazone, cantidad que se consideró de riesgo de toxicidad baja.

Lee et al. (2004) encontraron que la disponibilidad total de clomazone para las plantas (arroz, capín y otras malezas) se incrementa con el aumento en la humedad del suelo independientemente del tipo de suelo.

El daño que se observa en las plantas de arroz está directamente relacionado a la cantidad de clomazone que hay en la solución del suelo. De modo que hay que ser cuidadoso porque cuando se aplica clomazone en suelo sembrado con arroz sin humedad, se baña u ocurre una lluvia importante, se debe esperar un muy buen control del capín y otras malezas y al mismo tiempo se puede tener un impacto negativo en la implantación del cultivo dado que las oportunidades para que se expresen daños severos en el arroz son mayores (Saldain y Deambrosi, 2009).

2.2.3. Aire

La volatilización es el proceso por el cual un compuesto es transferido desde la solución del suelo y de la superficie de las plantas a la atmósfera. Una vez allí el compuesto podrá ser transferido largas distancias y eventualmente ser depositado nuevamente en la superficie por medio de viento (deposición seca) y/o por deposición húmeda (lluvia, nieve, neblina, Gavrilescu, 2005).

Las características físico-químicas de la molécula de clomazone con relación a su alta presión de vapor, solubilidad en agua, baja adsorción en suelo sumado a las condiciones de cultivo irrigado sugieren alto potencial de volatilización. Pudiendo ese herbicida en la fase vapor, contaminar el ambiente, alcanzar organismos no objetivo y/o no lograr la dosis óptima en la maleza que se quiere controlar.

Cuando el clomazone es aplicado sobre suelo húmedo en condiciones de alta demanda atmosférica como se puede dar en noviembre y diciembre en Uruguay, puede ocurrir volatilización (Saldain y Deambrosi, 2009).

Schreiber et al. (2013) demostraron que el sorgo es la especie más sensible al clomazone presente en la fase vapor, seguido del maíz y luego el arroz.

Se ha estudiado el efecto de la temperatura en la volatilización del clomazone en suelo, encontrándose una menor concentración de éste a mayor temperatura, lo que indica que las temperaturas elevadas aumentan las pérdidas (Locke et al. 1996, Villalba et al. 2016).

2.3. DEGRADACIÓN DEL CLOMAZONE

2.3.1. Procesos abióticos

La hidrólisis y la fotodegradación son los factores más importantes involucrados en la descomposición de los plaguicidas en el ambiente (Mandal et al. 2011, Chamberlain et al. 2012). Particularmente para el clomazone la hidrólisis no es importante en la degradación, pero sí lo es la fotodegradación (Cao et al. 2013, Van Scoy 2014).

Zanella et al. (2008) encontraron que la radiación UV aumentó la degradación del clomazone en todas las muestras estudiadas. Estos autores cuantificaron una vida media de 3,2 días en tres zafras consecutivas, y después de una aplicación la concentración en agua permaneció por encima de 0,1 µg/L por alrededor de 20 días. En este trabajo se observó que en agua destilada se produjo una degradación mayor del herbicida en comparación con agua de riego. Eso probablemente ocurrió debido a la turbidez de las muestras de agua de riego, lo que redujo la penetración de la radiación UV. Las sustancias orgánicas disueltas presentes en el agua de riego pueden inducir una reducción de la velocidad de degradación.

La cinética de la hidrólisis y fotólisis del clomazone fueron estudiados por Cao et al. (2013), que analizaron los subproductos de la fotodegradación identificados por HPLC-MS, concluyendo que la fotodegradación de clomazone se realiza a través de varias vías de reacción: 1) deshalogenación; 2) sustitución del grupo cloro por hidroxilo; 3) escisión de la cadena lateral. Los fotosensibilizadores, como H₂O₂ y riboflavina, podrían mejorar la fotólisis de clomazone.

2.3.2. Procesos bióticos

Se ha encontrado que la principal vía de degradación del clomazone es a través de los microorganismos (Tomco y Tjeerdema, 2012).

Liu et al. (1996) evaluaron las capacidades de 41 microorganismos para metabolizar el herbicida. Las principales reacciones de transformación microbiana implicaron hidroxilación en el carbono 5-metileno del anillo de isoxazolidona, hidroxilación de un grupo metilo en el anillo de oxazolidona, e hidroxilación aromática en la posición 3'. Las rutas metabólicas secundarias incluyen dihidroxilaciones de clomazone en el anillo aromático, escisión del enlace N-C de isoxazolidona o eliminación completa del anillo de isoxazolidona para formar alcohol clorobencílico.

Entre las condiciones que afectan la degradación microbiana del clomazone, se encuentra la presencia de oxígeno (O₂), encontrándose mayor degradación de este herbicida en condiciones de anaerobiosis en comparación con la aerobiosis. Por otra parte, la degradación microbiana de clomazone se favorece en condiciones de pH neutro del suelo. Además, las poblaciones microbianas tienden a ser más abundante en condiciones de no labranza, lo que también afectaría la degradación del herbicida (Tomco et al., 2010).

Mervosh et al. (1995a) encontraron que también la mineralización del clomazone es dependiente de la actividad microbiana.

2.4. ACTIVIDAD EN PLANTA

2.4.1. Absorción y translocación

El clomazone se absorbe sistémicamente en las plantas a través de las raíces desde el suelo o también por brotes, y luego es traslocado principalmente por xilema y se difunde por las hojas (Vencill et al., 1990).

2.4.2. Sintomatología y sitio de acción

Las plantas sensibles al clomazone muestran albinismo que las hace más susceptibles al estrés oxidativo que causa la absorción de luz ultravioleta (TenBrook y Tjeerdema, 2005).

Este blanqueamiento observado ocurre debido a que este herbicida interfiere con el desarrollo de los cloroplastos y reduce o impide la acumulación de pigmentos plástidos. Inhibe la formación de isoprenoides unidos a los cloroplastos. Se piensa que el metabolito 5-cetoclomazone es el responsable de dicha toxicidad puntualmente interfiriendo en la ruta metabólica denominada vía del 2C-metil-D-eritrol 4- fosfato (MEP) que tiene lugar en el cloroplasto (Ferhatoglu y Barrett, 2006).

2.5. TIPO DE FORMULACIÓN

La tecnología de los agroquímicos debe proporcionar estrategias cada vez más seguras para el usuario y el ambiente y más eficaces en control de plagas y malezas. Con este objetivo actualmente se desarrollan ingredientes activos que exigen un proceso de transformación química con formulaciones que permitan una aplicación más eficiente y económica por parte de los usuarios (Cunha et al., 2010).

2.5.1. Concentrado emulsionable

Es una formulación líquida destinada a la dilución en agua en la cual el ingrediente activo se incorpora a un solvente, lo que resulta en una solución concentrada. Es necesario agregar un adyuvante para lograr que se forme una mezcla homogénea y acuosa la que le da un aspecto lechoso (Cunha et al., 2010). Las formulaciones de concentrados emulsionables han sido muy populares durante muchos años y representan el mayor volumen de todas las formulaciones de pesticidas en términos de consumo en todo el mundo. Se presentan como aceites o ceras de bajo punto de fusión, que son solubles en solventes orgánicos, no polares, derivados del petróleo (Knowles, 2008).

2.5.2. Solución micro cápsulas

Esta tecnología permite encapsular un compuesto dentro de una pequeña esfera conocida como microesferas / micro cápsulas, que tiene un diámetro promedio de 1 mm a varios cientos de micrometros. Estas microcápsulas liberan su contenido de forma controlada, a una velocidad inferior a la formulacion emulsionable (Dubey, 2009). Por lo que se estima que podría contribuir a mitigar la transferencia de vapor del herbicida fuera del área objetivo sin sacrificar sustancialmente la eficacia del herbicida además de otras ventajas considerables como una actividad biológica más duradera y podría reducir la toxicidad en el cultivo (Mitchell et al., citados por Bollich et al. 2000, Knowles 2008).

En tal sentido Schreiber et al. (2016) compararon volatilidades de dos formulaciones de clomazone en túneles de viento a campo, utilizando sorgo como bioindicador. Como resultado, el Gamit 360 CS® (formulación microencapsulado) causó menor toxicidad al sorgo, concluyendo que dicha formulación presentó menor volatilización. Las otras dos formulaciones (Gamit 500 EC® (formulación concentrado emulsionable) y Gamit Star® (también concentrado emulsionable) presentaron mayor daño al sorgo demostrando una mayor volatilización, sin diferencias relevantes entre estos últimos.

2.6. CARACTERÍSTICAS DE *Echinochloa colona*

2.6.1. Importancia

Presenta diversos ecotipos, alta producción de semillas, semilla pequeña, dormancia, crecimiento rápido, interacción alelopática, resistencia contra varios herbicidas incluyendo ametrina, atrazina, bispiribac-sodio, clefoxidym, cyhalofop-butyl, fenoxaprop-p-ethyl, glyphosate, metribuzin, propanil, y sobre todo por su gran capacidad de competencia son de gran preocupación para los investigadores y agricultores a nivel mundial (Peerzada et al., 2016).

Es una de las integrantes del complejo capín presentes en el cultivo junto *E. crus-pavonis*, *E. mitis*. Esta última de notoria presencia en el norte del país. Su presencia predomina en todas las zonas arroceras del país y el no controlarla lleva a grandes pérdidas para los productores, las que pueden llegar a ser totales (Marchesi y Lavecchia, 2011).

2.6.2. Descripción botánica

E. colona es una planta C4 polimórfica y autotetraploide. De hábito prostrado o erecto, raíz poco profunda. De ciclo anual y ocasionalmente perenne que puede crecer hasta un metro de altura. La inflorescencia de *E. colona* es verde teñida de púrpura, erecta, 5-10 cm de largo con racimos estrechos, extendidos, ascendentes o ramificados en algún momento estrechamente unidos al eje primario (Hrusevar et al., 2015). Estas características morfológicas se asemejan al arroz y causan problemas para erradicarla en etapas tempranas de los arrozales (Galon y Agostinetto, 2009). Además es difícil separar mecánicamente las semillas de arroz de las de las semillas de la maleza, lo que lleva a la siembrade de esta maleza a nuevo campos (Gressel, 2002).

2.6.3. Ecología de la semilla

Las semillas son fotoblásticas y cuando no están en dormancia pueden germinar bien en un rango amplio de temperaturas que van de 20 a 34° C (Lin y Kuo, 1996).

Chauhan y Johnson (2009) encontraron que la germinación disminuyó significativamente con un nivel de estrés hídrico menor a 0.2 MPa de humedad. Además las semillas de *E. colona* mostraron una germinación máxima en la superficie del suelo y la emergencia disminuyó a medida que la profundidad del entierro aumentó hasta 6 cm. En este experimento los autores concluyeron que su germinación es favorecida por un ambiente húmedo y sistemas de cultivo de labranza reducida.

Wu et al. (2004) investigaron el patrón de emergencia de las plántulas en condiciones de suelos secos. Las semillas de esta especie fueron capaces de emerger hasta una profundidad de 10 cm con emergencia máxima de 1 a 2 cm de profundidad de enterramiento.

2.6.4. Control químico

Deambrosi y Saldain (2007) encontraron que la aplicación pre-emergente de clomazone permite reducir significativamente la población de capín y sumando una aplicación post-emergente de propanil es suficiente para completar el control, lográndose muy buena productividad.

En tal sentido, Lavecchia y Marchesi (2009) evaluaron distintas combinaciones de herbicidas disponibles en el mercado y diferentes momentos de aplicación de estos compuestos sobre el control del capín. Estos autores incluyeron aplicaciones pre-emergentes o no de clomazone y la complementación o no de aplicaciones post emergentes de uno o más productos en mezcla. La siembra de arroz y de capín fue el 11/11, el tratamiento pre-emergencia fue el 03/12 y el post-emergencia fue el 23/12 cuando los capines tenían 2 macollos. Los resultados arrojaron que si se comparan solo los tratamientos que incluyeron clomazone como pre-emergente el control obtenido con dicho tratamiento por sí solo no fue suficiente para obtener rendimientos altos, sino que se requirió además de una aplicación post-emergente de otro/s productos. Los mayores rendimientos se consiguieron con la secuencia clomazone (pre) y una mezcla de bispyribac con quinclorac, o con penoxsulam, o con profoxidim. El uso de la mezcla propanil + quinclorac también tuvo buen rendimiento, no difiriendo significativamente de los mencionados anteriormente.

Marchesi y Lavechia (2011) analizando varios tratamientos en tres zafras: 2008-2009, 2009-2010 y 2010-2011, obtuvieron los mejores resultados de la combinación del pre emergente y distintas opciones post emergentes (bispyribac + quinclorac, profoxidim, propanil + quinclorac, penoxsulam), así como solo el uso de post emergentes (bispyribac + quinclorac, propanil + quinclorac, penoxsulam, propanil + quinclorac + clomazone).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

El experimento se llevó a cabo en condiciones semi controladas en invernadero en la Estación Experimental "Dr. Mario A. Cassinoni" (EEMAC), Facultad de Agronomía, Universidad de la República, ubicada en Ruta 3 km 363, Paysandú-Uruguay.

3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTOS

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, resultando 4 tratamientos de la combinación de dos factores evaluados: tipo de formulación del clomazone y nivel de humedad del suelo. Se trabajó con dos formulados comerciales: suspensión micro cápsulas (ME) y concentrado emulsionable (CE, ver cuadro No. 2). Los niveles de humedad del suelo fueron: suelo seco el cual fue saturado con agua (a capacidad de campo) a partir del día 4 (SE) y suelo saturado a partir del día 0 post aplicación (SAT). Cada tratamiento contó con 3 repeticiones. Las variables de respuesta evaluadas fueron cuantificación de clomazone en suelo y cuantificación de clomazone en aire. Además se contó con un tratamiento testigo sin agregado de herbicida para cada nivel de humedad, con el fin de evaluar el porcentaje de control de *E. colona*.

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. Instalación del ensayo

El experimento fue realizado dentro de un invernáculo, en el cual se confeccionaron dos estructuras de nylon de igual tamaño con un volumen aproximado de 20 m³ cada uno. Dichos boxes estaban totalmente aislados entre sí y con el exterior, de manera tal de mitigar posibles pérdidas de clomazone (ver figura No. 2). La temperatura del aire se mantuvo constante a 28 °C durante todo el experimento mediante aire acondicionado instalado dentro de cada box.



Figura No. 2. Box de nylon utilizados en el ensayo

3.3.2. Siembra del capín

Para la siembra de capín (*E. colona*) y aplicación del herbicida se usó suelo de la estación, que corresponde a la unidad San Manuel, perteneciente a la formación Fray Bentos. El suelo fue clasificado según análisis realizado, de textura franca, y presentó un pH (Agua) de 6,4. Previamente a iniciar el ensayo se realizó un análisis para asegurar la ausencia de clomazone en el suelo a utilizar.

Para cada maceta, se tomó una muestra compuesta representativa del suelo. El suelo fue tamizado y mezclado con arena a razón de 4:1 para evitar la compactación del suelo por el agua del riego en las macetas. Luego de completadas las macetas se realizó la siembra de 25 semillas de *E. colona* por maceta distribuidas de forma equidistantes y a 1,5 cm de profundidad. La siembra se llevó a cabo un día antes de la fecha de aplicación del herbicida. Los recipientes utilizados como macetas fueron baldes negros de 10 litros de capacidad y un área de 0,07 m².

Se aplicó el herbicida en sus dos tipos de formulación en las dos situaciones de humedad el día 15 de marzo. Luego de la aplicación permanecieron en los boxes por 9 días y luego fueron reubicadas fuera de estos donde se mantuvieron con el suelo saturado hasta los 15 días post aplicación.

3.3.3. Aplicación del herbicida

Los formulados comerciales de clomazone, se aplicaron de forma homogénea por toda la superficie de las macetas de los respectivos tratamientos con pulverizador manual. La dosis de ingrediente activo utilizada fue de 480 g Há-1, correspondientes a las dosis comerciales que se presentan en el cuadro No. 2.

Cuadro No. 2. Características del herbicida utilizado

Formulación	Marca Comercial	Concentración	Dosis en producto comercial L//ha
Concentrado emulsionable CE	Clomagan 480	480 g/L	1
Solución micro cápsulas ME	Clomagrom 360ME	360 g/L	1,33

3.3.4. Manejo del riego

En los tratamientos de suelo saturado, desde el día 0 post aplicación se mantuvo la humedad del suelo en capacidad de campo durante los 15 días de duración del experimento. Mientras que para el caso del tratamiento seco y saturado a partir del día 4 se mantuvo el suelo sin agregado de agua durante los primeros 4 días post aplicación luego del cual se llevó a capacidad de campo y se mantuvo así hasta el día 15. En ambos casos se agregó aproximadamente 1 litro de agua por maceta por día.

3.4. DETERMINACIONES REALIZADAS

3.4.1. Muestreos de clomazone en aire

Las cuantificaciones de clomazone en aire, se llevaron a cabo a las 2, 24, 96 y 120 horas post aplicación del herbicida. El muestreo de clomazone en aire se realizó a través de esponjas de poliuretano de poro fino de 9 cm de diámetro (metodología validada previamente para la extracción de clomazone en aire por el Grupo de Análisis de Contaminantes Traza del Departamento de química del litoral), colocadas en un círculo de alambre de 62 cm de diámetro suspendido en el aire a 70 cm sobre las tres macetas de cada box (ver figura No. 3). Luego de cada tiempo de evaluación los 3 muestreadores de poliuretano eran reemplazados por nuevos hasta el siguiente tiempo de muestreo. Como resultado se obtuvieron tres esponjas por cada tiempo de medición para cada formulación. Inmediatamente después a ser retiradas las muestras se acondicionaron en cajas de petri cerradas herméticamente y rotuladas para su posterior conservación en freezer a -20° C hasta su análisis en laboratorio.



Figura No. 3. Diseño del soporte y posición de los muestreadores de clomazone en aire

3.4.2. Muestreos de clomazone en suelo

Las cuantificaciones de clomazone en suelo, se llevaron a cabo a las 2, 24, 96 y 120 horas post aplicación de herbicida. Por cada repetición se tomó una muestra compuesta de dos submuestras. Las mismas se tomaron con calador de suelos convencional a 10 cm de profundidad. Previo a la siembra del capín, se marcaron 8 puntos equidistantes (2 por cada tiempo de evaluación) sobre la superficie de cada maceta, que constituyeron la muestra compuesta de cada tiempo de evaluación. En dichos puntos no se colocó ninguna semilla, de manera tal que el proceso de muestreo no afectara ninguna semilla y/o plántula de *E. colona* (figura No. 4). Posteriormente a cada tiempo de evaluación, las muestras de suelo fueron acondicionadas en freezer a -20° C hasta el momento de ser analizadas en laboratorio.

Luego de realizadas las pruebas de la técnica de extracción de clomazone en suelo, no fue posible validar dicha técnica para extraer el clomazone en suelos húmedos con la precisión mínima requerida. Con lo cual se decidió descartar las muestras de suelo con humedad y continuar trabajando solamente con las muestras de suelo seco.



Figura No. 4. Macetas conteniendo los 8 puntos utilizados para estimar el contenido de clomazone en suelo

3.4.3. Cuantificación de control de capín

Las determinaciones del porcentaje de germinación y desarrollo de las plantas de capín se realizaron el día 3, 6, 9, y 15 post aplicación del herbicida. Se cuantificó el número de nuevas emergencias en cada tiempo de medición.

$$\% \text{ Germinación} = \frac{\text{n}^\circ \text{ plantas germinadas}}{\text{n}^\circ \text{ semillas sembradas}} * 100$$

3.5. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

3.5.1. Materiales y reactivos

Se trabajó con estándar de alta pureza de clomazone de la firma Dr. Ehrenstorfer GmbH (95,5 %) como solventes de extracción y para las distintas fases móviles de las corridas cromatográficas se utilizó acetonitrilo (PHARMCO-AAPER) calidad UV-HPLC, metanol (PHARMCO-AAPER) calidad UV-HPLC, agua acidificada al 0,1% con ácido fórmico 88% (Macron Chemicals, Países Bajos). Para el procedimiento de extracción se utilizaron tubos tipo Falcon de punta cónica de 50 mL, jeringas de 5 mL y filtros de PTFE hidrofóbico de 0,45 µm., viales de 4 mL para almacenar las muestras, y viales para muestreo automático de 2 mL con tapa rosca y septo para la inyección en el equipo cromatográfico.

3.5.2. Sistema instrumental

Para la determinación de los residuos de clomazone en las muestras se utilizó un cromatógrafo líquido Agilent 1200 acoplado a un espectrómetro de masas API 4000 (LC-MS/MS). La separación cromatográfica se realizó empleando una columna Zorbax Eclipse XDB-C18 de 150 x 4,6 mm y 5 µm de tamaño de partícula. El método cromatográfico utiliza agua al 0,1% con ácido fórmico y acetonitrilo como solventes para la separación cromatografía con un gradiente inicial de 90:10 (ver figura No. 5) y temperatura de horno de la columna de 20°C.

Se utilizó el método de monitoreo de reacciones múltiples (MRM) para la detección de los analitos en el MS/MS. En el cuadro No. 3 se muestran las transiciones monitoreadas para clomazone así como su tiempo de retención.

Cuadro No. 3. Parámetros instrumentales para el herbicida en estudio

Ion precursor	Ion producto	tR (min)
240	125	7,60
240	89,3	7,60
240	99,1	7,60

3.5.3. Clomazone en los muestreadores de aire

Se pesaron en un tubo Falcon de 50 mL, 0,3 g de muestreador de poliuretano previamente dividido en pequeños fragmentos de 0,5 cm de lado. Se agregaron 24 mL de MeOH y se agitó manualmente durante 2 minutos. Posteriormente se pusieron los tubos en un baño ultrasonido por 10 minutos. Se evaporaron 5 mL de extracto a presión reducida (40 °C). El extracto final se re-disolvió en 1 mL de MeCN para su análisis en el sistema instrumental LC-MS/MS. Esta metodología analítica fue validada previamente por el grupo de Análisis de Compuestos Traza (GACT). Departamento de Química del Litoral. CenUR Litoral Norte.

3.5.4. Clomazone en suelo

Se tomaron 10 g de suelo de cada muestra (previamente liofilizada) en un Erlenmeyer, se adicionaron 50 mL de metanol MeOH y se llevó al agitador por 24 horas a 137 rpm. Posteriormente se transfirió el sobrenadante a un tubo falcon de 50 mL, se centrifugó durante 2 minutos a 3500 rpm. El sobrenadante se transvasó a una pera de vidrio de 50 mL para ingresarlo al rotavapor (sistema de presión reducida) hasta sequedad a 40 °C. El extracto final se re-

disolvió con con 1 mL de MeOH y se filtró a un vial de 2 mL para llevarlo al sistema instrumental.

Previamente a la determinación analítica de las muestras, fue necesario validar un método que cumpliera con las especificaciones del documento SANTE. Para lo cual se tomaron 3 muestras de 100 g de suelo virgen, con 0 %, 10 % y 20 % de agua miliQ agregada. La fortificación se realizó con una solución de trabajo de 100 µg/kg de clomazone, comparándose luego los porcentajes de recuperación del pesticida.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. VOLATILIZACIÓN DE CLOMAZONE

En el cuadro No. 4 se presenta el análisis de varianza del experimento en el que se pueden observar cada efecto y las combinaciones entre ellos al 95 % de confianza.

Tanto la formulación de manera aislada como la combinación de esta con humedad no mostraron efectos sobre la concentración de clomazone en las esponjas, mientras que los demás efectos estudiados tanto de forma aislada como en sus interacciones, sí afectaron la volatilización.

También existió efecto de interacción triple entre los factores estudiados.

Cuadro No. 4. ANOVA. Significancia de los efectos de cada factor sobre la volatilización

Efecto	P-valor
formulación	0.1450
humedad	<.0001
formulación*humedad	0.3006
hora	<.0001
formulación*hora	0.0410
humedad*hora	<.0001
formulación*humedad*hora	0.0106

Como hubo efecto en la triple interacción, ésta se analizó en primera instancia, dejando de lado los efectos individuales porque estos dependieron de la combinación con los otros dos factores. Pero es de interés para este trabajo observar en qué condiciones se volatilizó más que en otras. En este sentido es interesante mencionar algunas consideraciones que pueden surgir de los efectos individuales.

En el análisis de varianza (cuadro No. 4) se vió que hubo efecto significativo de la humedad del suelo sobre la volatilización del clomazone. Los tratamientos correspondientes a suelo saturado (SAT) sumaron 14776 ppb de clomazone volatilizado, lo cual significó un 60 % más que lo que se volatilizó en el total de los tratamientos de suelo seco y saturado a partir del día 4 (SE).

En segunda instancia cuando se analizó el efecto de la formulación de forma aislada se pudo ver que no hubo diferencias significativas entre las formulaciones suspensión micro cápsulas (ME) y concentrado emulsionable (CE). Aunque como se verá más adelante, la triple interacción sí fue significativa para esta variable de respuesta.

Otra pregunta que surge es ¿en qué tiempo de muestreo se volatilizó más? Los resultados mostraron una tendencia a una mayor volatilización inicial que disminuyó con el transcurso del tiempo desde la aplicación del herbicida. Para ilustrar esto se presentan en la figura No. 5 las proporciones del total volatilizado por parte de cada hora en que se tomó registro.

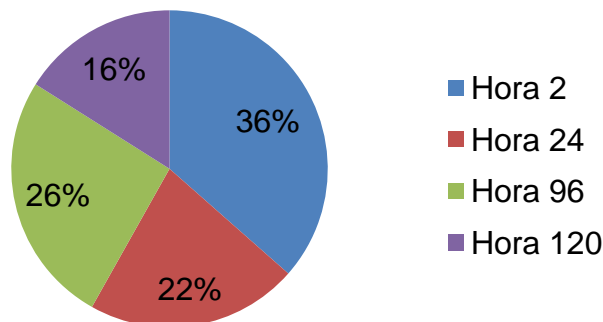


Figura No. 5. Volatilización total de clomazone según el tiempo de medición, expresado como porcentaje (%)

Cuando el clomazone es aplicado sobre la superficie de un suelo húmedo, o inmediatamente después de un baño, o cerca de un evento de lluvia importante, sumado a condiciones de alta demanda atmosférica como es frecuente en verano en Uruguay pueden ocurrir mayores pérdidas por volatilización que cuando se aplica clomazone en un suelo con menor contenido de humedad.

En el cuadro No. 5 se muestran las medias de los tres factores analizados para la variable de respuesta volatilización.

Cuadro No. 5. Concentraciones medias de clomazone extraído de los muestreadores de polyfon en los distintos tratamientos

HORA	FORMULACIÓN	HUMEDAD	CONTENIDO DE CLOMAZONE (ppb)
2	ME	SE	1013.16
2	ME	SAT	3696.59
2	CE	SE	1091.79
2	CE	SAT	2800.14
24	ME	SE	1249.27
24	ME	SAT	773,1
24	CE	SE	1198.78
24	CE	SAT	1882.69
96	ME	SE	935.09
96	ME	SAT	2715.95
96	CE	SE	1086.38
96	CE	SAT	1345.79
120	ME	SE	1322.09
120	ME	SAT	912.06
120	CE	SE	895.76
120	CE	SAT	652.88

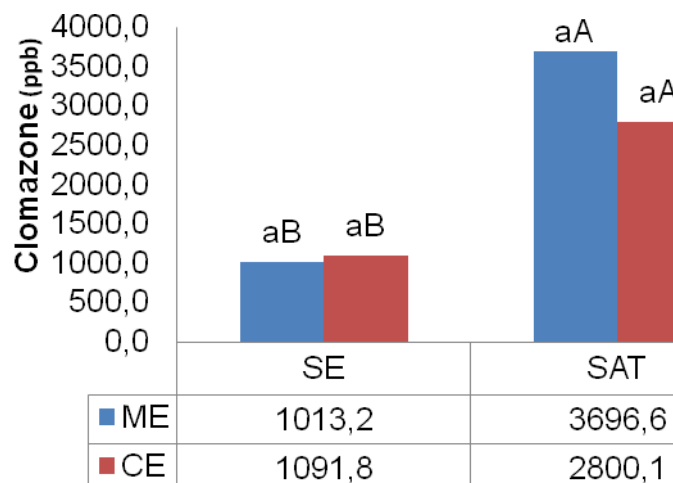
(ME= suspensión micro cápsulas, CE= Concentrado emulsionable, SE= seco, SAT= saturado)

Para mejor comprensión de esta triple interacción se analizan las comparaciones de los factores "formulación" y "humedad de suelo", para cada tiempo de evaluación realizada.

En la hora 2 no se obtuvieron diferencias significativas entre formulaciones (figura No. 6) para ninguna de las dos situaciones de humedad en suelo. Estos resultados contradicen lo esperado ya que la tecnología de micro cápsulas según Dubey (2009) libera su contenido de forma controlada a una velocidad reducida en comparación a la formulación concentrado emulsionable. Por lo que se esperaría que la volatilización inicial sea menor para esta formulación.

Sin embargo, al analizar el efecto de la humedad de suelo sobre la volatilización para cada formulación se observa que ambas formulaciones

presentaron mayor volatilización en suelo saturado que en suelo seco para este momento de medición. Las propiedades físico químicas del clomazone le confieren una afinidad baja a moderada por el suelo. En un mismo suelo con distintos grados de humedad se han encontrado diferencias en concentración de clomazone adsorbido (Mervosh et al., 1995b). De manera que cuando un suelo recibe agua, ésta desplazará al clomazone desde donde está retenido hacia la solución del suelo quedando este más susceptible a sufrir los procesos de volatilización.



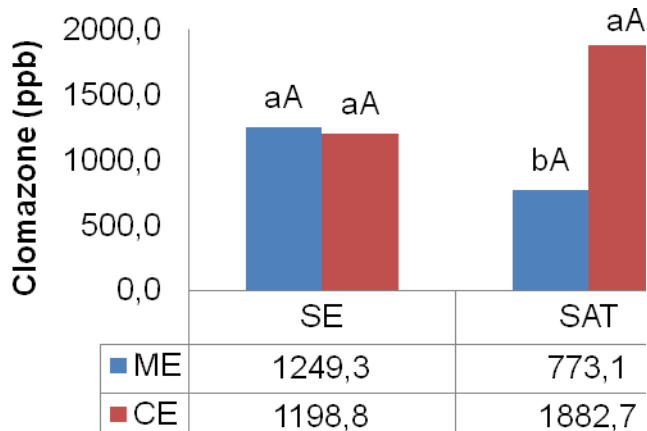
ME= Suspensión microcápsula, CE= Concentrado emulsionable, SE= seco, SAT= saturado. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre formulaciones y letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de humedad de suelo

Figura No. 6. Concentración de clomazone en las esponjas, para las dos formulaciones y las dos condiciones de humedad estudiadas a la hora 2

La evaluación de la hora 24 (figura No. 7) determinó que en suelo seco no existieron diferencias entre las formulaciones, mientras que en suelo saturado se encontró una mayor volatilización de la formulación Concentrado Emulsionable que de la Suspensión Micro cápsulas. Este resultado podría fundamentarse en que, en suelo saturado el clomazone queda más susceptible a ser volatilizado, por lo que la formulación ME de liberación más lenta en este caso lograría el objetivo de controlar mejor el proceso de volatilización (Dubey 2009, Schreiber et al. 2016). Sin embargo, esto no pasó a las dos horas, no controló la tasa de liberación. Es posible que a las 24 hs las microcápsulas

tenían menos clomazone para liberar de su interior y por eso disminuyó el aporte.

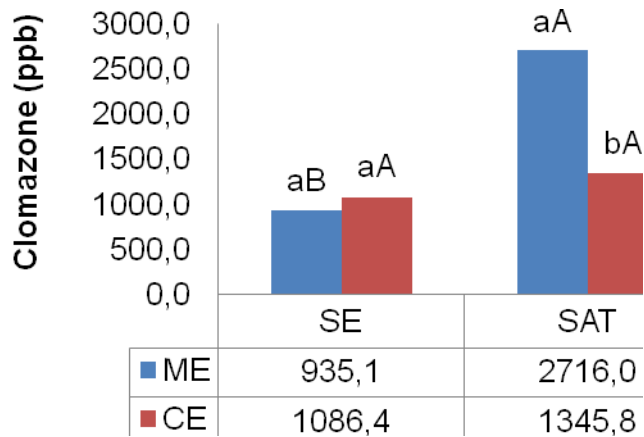
Por otro lado, no hubo diferencias en el clomazone volatilizado entre los niveles de humedad evaluados. En este tiempo de medición el valor de clomazone volatilizado del tratamiento ME SAT fue de 773,1 ppb de clomazone lo cual fue muy bajo comparado con los otros ME SAT de otros tiempos de medición, este valor es de difícil explicación , lo cual puede estar indicando porqué no hubo diferencias significativas a la condición de humedad de suelo.



ME= Suspensión Micro cápsulas, CE= Concentrado emulsionable, SE= seco, SAT= saturado. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre formulaciones y letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de humedad de suelo

Figura No. 7. Concentración de clomazone en las esponjas para las dos formulaciones y las dos condiciones de humedad estudiadas a la hora 24

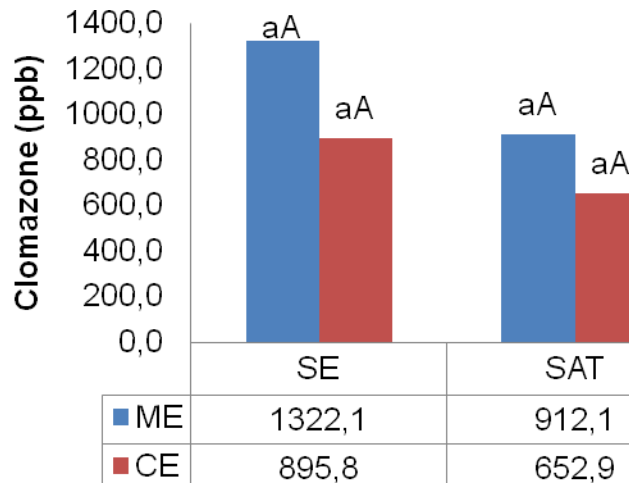
En la hora 96 post aplicación (figura No. 8), en el tratamiento saturado se observó un comportamiento contrario que en la evaluación anterior, observándose mayor concentración de clomazone volatilizado para la formulación ME que en CE. Por otro lado, en el tratamiento seco al igual que en la evaluación anterior no hubo diferencias significativas entre formulaciones. Con respecto a la humedad de suelo, la formulación ME tuvo más volatilización en saturado que en seco, mientras que la formulación CE no mostró diferencias significativas en ninguno de los dos niveles de humedad de suelo.



ME= Suspensión Microcápsula, CE= Concentrado emulsionable, SE= seco, SAT= saturado. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre formulaciones y letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de humedad de suelo

Figura No. 8. Concentración de clomazone en las esponjas para las dos formulaciones y las dos condiciones de humedad estudiadas a la hora 96

La hora 120 post-aplicación de clomazone (figura No. 9) fue el último tiempo de medición en el que se cuantificó volatilización. Es bueno recordar aquí que el suelo del tratamiento SE se saturó con agua en la hora 96 (día 4 post aplicación), con lo cual el período de tiempo que transcurrió desde la hora 96 hasta la 120 causó que tanto el tratamiento SE como SAT tuvieran el mismo nivel de humedad. Quizás esto explicara que no se encontraron diferencias significativas entre formulaciones para ninguna de las dos situaciones de humedad de suelo. Tampoco se encontró efecto de la humedad de suelo para ninguna formulación en esta hora de evaluación.



ME= Suspensión Micro cápsula, CE= Concentrado emulsionable, SE= seco, SAT= saturado. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre formulaciones y letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre niveles de humedad de suelo

Figura No. 9. Concentración de clomazone en las esponjas para las dos formulaciones y las dos condiciones de humedad estudiadas a la hora 120

Con la finalidad de aportar más información complementaria, se graficó el clomazone acumulado los factores, "formulación" y "humedad de suelo". Como no es posible realizar análisis estadístico porque son unidades experimentales diferentes (cada esponja), solo se realizan inferencias comparativas. La liberación total de clomazone al aire (clomazone acumulado) no presentó diferencias entre formulaciones cuando la condición del suelo era seco. Mientras que cuando el suelo estaba en condición de saturación, el total acumulado fue superior para la formulación de suspensión micro cápsulas, contrario a lo esperado, pero consecuencia de las variaciones que se comentaron anteriormente para cada fecha de evaluación.

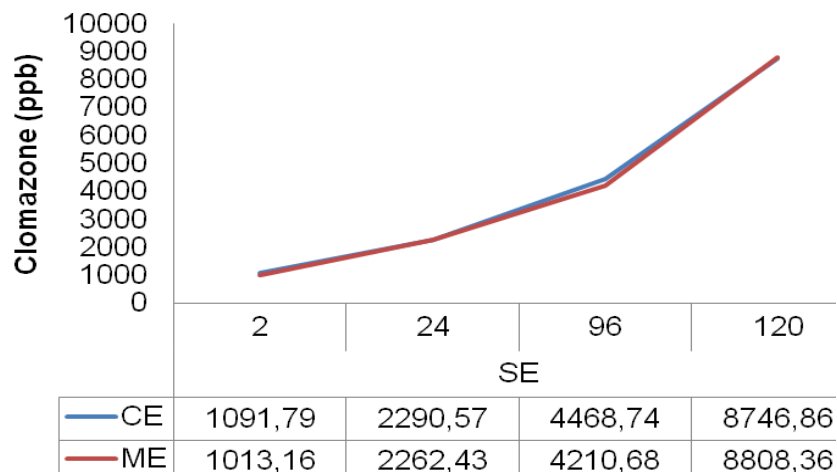


Figura No. 10. Clomazone acumulado para las dos formulaciones en condición de suelo seco

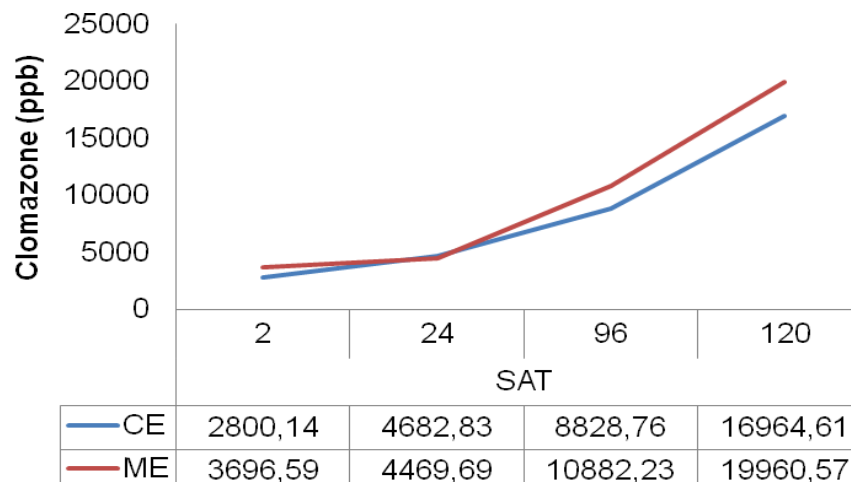


Figura No. 11. Clomazone acumulado para las dos formulaciones en condición de humedad saturado

4.2. CLOMAZONE EN SUELO

Es conveniente aclarar que no fue posible ajustar en el laboratorio una metodología para extraer el clomazone de las muestras de suelo que contenían

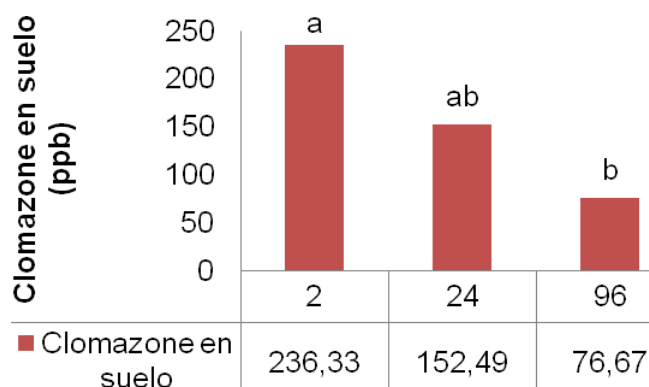
humedad, ya que dicho herbicida se perdía en la etapa de liofilización. Por lo que los resultados presentados corresponden a suelos de los tratamientos seco hasta el momento en que se les agregó el agua (hasta la hora 96).

En el cuadro No. 6 se presentan los factores analizados en el presente estudio y sus valores de significancia al 5 % de confianza.

Cuadro No. 6. ANOVA. Significancia de los efectos de cada factor sobre el contenido de clomazone en suelo evaluado en el experimento hasta la hora 96

Efecto	p-valor
Formulación	0,1046
Hora	0,0216
Formulación x hora	0,1527

Solo se observaron diferencias significativas en el contenido de clomazone en suelo entre distintas horas. Dicha variable fue mayor en la hora 2, reduciéndose luego en los siguientes tiempos de medición. Cabe destacar que entre la primera medida y la segunda no hubo diferencias estadísticamente significativas, pero sí hubo entre la primera medición y la última antes del agregado del agua (figura No. 12).



Letras diferentes indican diferencias significativas entre contenidos de clomazone en suelo entre los diferentes tiempos de medición

Figura No. 12. Contenido de clomazone en suelos en los tiempos de medición utilizados antes del agregado del agua

Este comportamiento difiere del observado en aire, ya que la volatilización cuantificada no fue significativa entre los tiempos de medición en el tratamiento nivel de humedad seco.

Por otra parte, al igual que en aire no se encontraron diferencias significativas entre formulaciones aunque la ME es considerada de liberación lenta (Dubey, 2009), con lo cual se hubiera esperado que tenga una menor concentración de clomazone inicial en comparación con la formulación CE.

A pesar de que en este experimento no fue posible cuantificar el clomazone de las muestras de suelo con humedad, se hubiera esperado que en esas condiciones el suelo contenga más concentración de clomazone en solución del suelo para ser utilizado por las plantas a las que se quiere controlar.

4.3. PORCENTAJE DE CONTROL DE CAPÍN

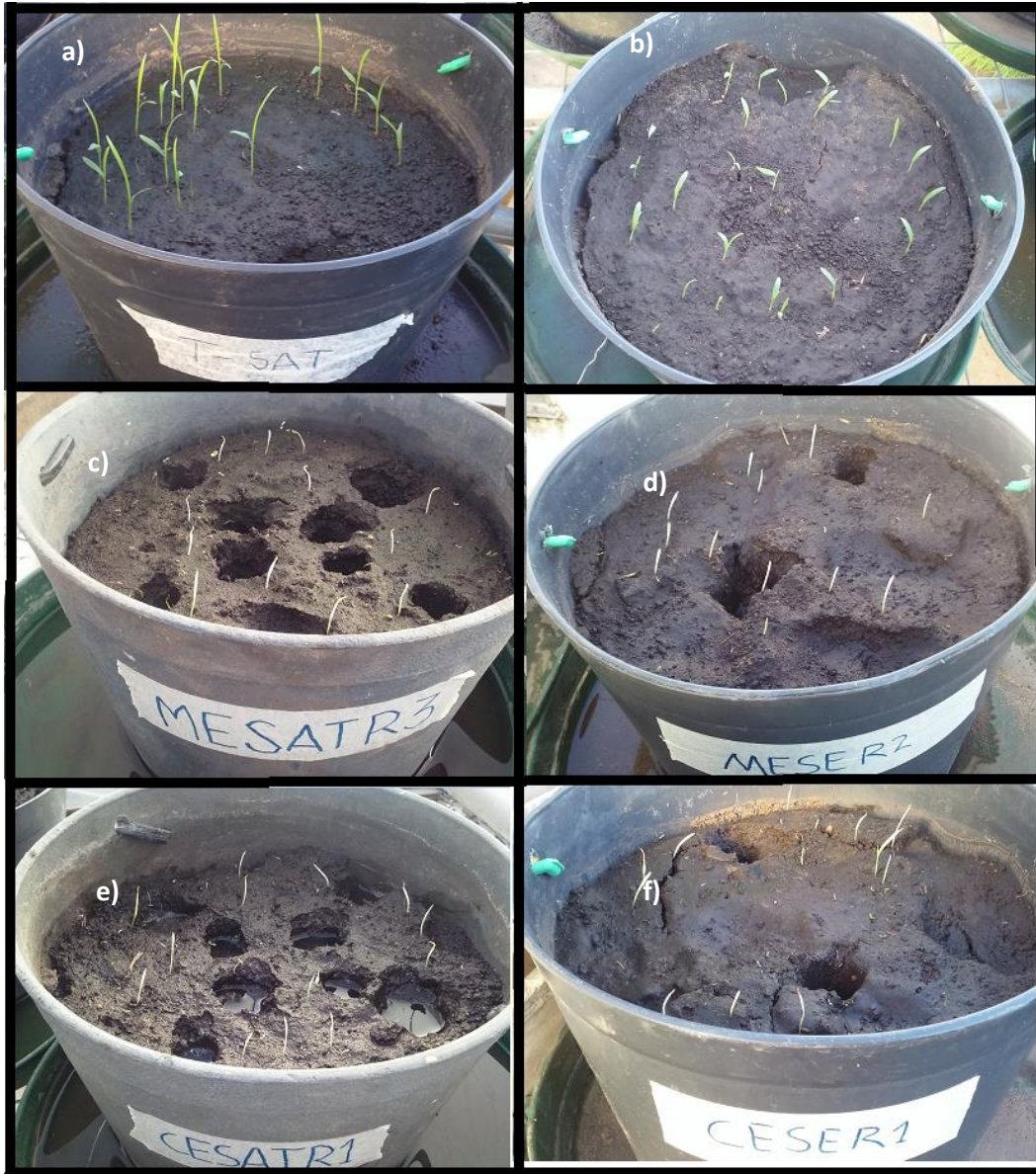
En el cuadro No. 7 se observa que los factores que afectaron la germinación fueron nivel de humedad de suelo y día.

Cuadro No. 7. ANAVA. Significancia de los efectos de cada factor sobre la germinación del capín

Efecto	P-valor
Formulación	0,5666
Humedad	0,0078
Form*hum.	0,9182
Día	<,0001
Día*form.	0,6742
Día*hum.	0,1236
Día*form.*hum.	0,884

Las variables que se cuantificaron fueron el porcentaje de germinación y plantas germinadas con síntoma. El porcentaje de control fue del 100 % en todos los tratamientos realizados en este experimento. Es decir que todas las plántulas que germinaron aparecieron con la despigmentación característica de la sintomatología del clomazone. Dichos síntomas fueron constatados desde el

mismo momento en que emergieron a la superficie, independientemente de la condición de humedad de suelo y de la formulación de herbicida (figura No. 13).

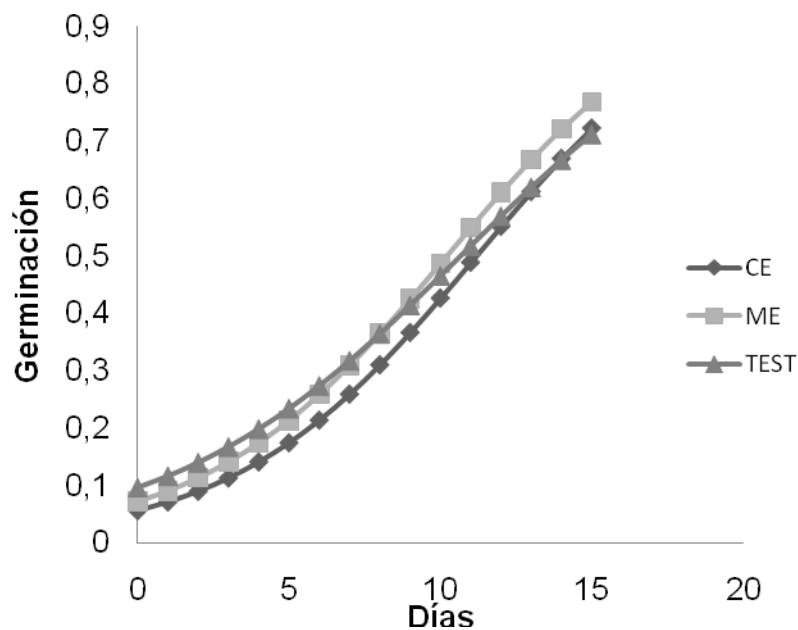


a y b: testigos
c-f-: niveles de humedad de suelo

Figura No. 13. Plantas emergidas correspondientes a los testigos y a los diferentes tratamientos de formulación y niveles de humedad del suelo

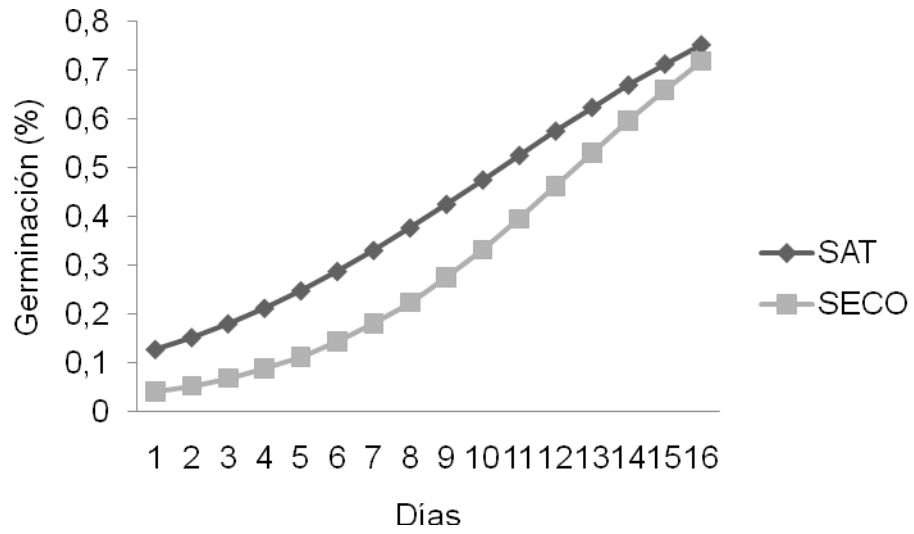
Igualmente se presentan los resultados de velocidad de germinación. No se evidenció efecto en la germinación para ninguno de los dos tipos de formulación ya que no hubo diferencias significativas en porcentaje de germinación entre las formulaciones estudiadas y el control (figura No.14). Estos resultados se explican debido al modo de acción del clomazone que afecta la síntesis de pigmentos, lo que genera la muerte de la planta días después de haber germinado.

La única respuesta en germinación fue para el nivel de humedad del suelo (figura No. 15). El nivel de humedad más elevado, donde el suelo siempre estuvo saturado mostró una aceleración de las germinaciones con respecto al tratamiento de suelo seco. Esto también era esperable ya que el ingreso de agua en la semilla es el principal factor que desencadena el proceso de germinación.



CE: concentrado emulsionable
ME: solución microcápsulas
TEST: testigo

Figura No. 14. Germinación según formulación, comparado con el testigo sin agregado de clomazone



SECO: seco y saturado al día 4
 SAT: saturado desde el día 0

Figura No. 15. Germinación para las condiciones nivel de humedad analizados

5. CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo en condiciones controladas indicaron que la humedad del suelo aumentó la volatilización del clomazone, siendo este efecto más importante en las primeras horas post aplicación del herbicida. Por otro lado, en suelo seco la volatilización fue menor y constante en todo el periodo cuantificado.

En lo que respecta a las formulaciones del clomazone, tanto la formulación suspensión micro cápsulas como concentrado emulsionable mostraron niveles de volatilización similares en condiciones de suelo seco, mientras que no se observó un efecto claro en favor de una u otra formulación en suelo saturado.

Tampoco se encontraron diferencias significativas en contenido de clomazone en suelo entre las formulaciones en suelo sin agregado de agua.

En lo que refiere al control del capín, no se registraron diferencias entre las dos formulaciones ni para el nivel de humedad del suelo; a pesar de que la velocidad de germinación fue superior para el suelo saturado, el control de *Echinochloa colona* fue excelente.

6. RESUMEN

El clomazone es ampliamente utilizado en agricultura, principalmente para el control químico de malezas como el complejo capín (*Echinochloas spp.*). Sin embargo, sus características físico-químicas sugieren un riesgo de deriva secundaria potencialmente alto, pudiendo en determinadas condiciones ambientales disminuir su eficiencia de control, alcanzar organismos no objetivos, y contaminar el ambiente. Este trabajo tiene como objetivo cuantificar los destinos del clomazone en el ambiente, evaluando dos formulaciones comerciales, en situaciones de suelo regado y seco, así como también sus implicancias sobre el control de capín. El experimento se llevó a cabo en invernáculo en la Estación Experimental "Dr. Mario A. Cassinoni" (EEMAC). El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, resultando 16 tratamientos de la combinación de tres factores evaluados tipo de formulación del clomazone suspensión micro cápsulas (ME) y concentrado emulsionable (CE), nivel de humedad del suelo, suelo seco el cual fue saturado con agua a partir del día 4 (SE) y suelo saturado a partir del día 0 post-aplicación (SAT). Las mediciones se hicieron a las 2, 24, 96 y 120 horas post aplicación. Cada tratamiento contó con 3 repeticiones. Las variables de respuesta evaluadas fueron concentración de clomazone en suelo y concentración de clomazone en aire. Además, se contó con un tratamiento testigo sin agregado de herbicida para cada nivel de humedad, con el fin de evaluar el porcentaje de control de capín. Los resultados de este trabajo mostraron que la humedad del suelo aumentó la volatilización del clomazone, siendo este efecto más importante en las primeras horas post-aplicación del herbicida. Por otro lado, en suelo seco la volatilización fue menor y constante en todo el periodo cuantificado. En lo que respecta a las formulaciones del clomazone, tanto la formulación suspensión micro cápsulas como concentrado emulsionable en suelo seco no mostraron diferencias en los niveles de volatilización. En suelo saturado las respuestas fueron erráticas y no se observó un efecto claro en favor de una u otra formulación. Por otro lado, en lo que refiere al control del capín, no se registraron diferencias entre las combinaciones de tratamientos de formulación y nivel de humedad. De este trabajo se puede concluir que para lograr buenos niveles de control de esta maleza reduciendo los procesos de pérdida de clomazone fuera del área objetivo, sería suficiente con asegurar la dosis de clomazone recomendada a nivel del suelo sin hacer diferencia en utilizar la formulación CE o la ME. Sin aplicarlo sobre suelo saturado con agua o próximo a un evento de lluvia importante.

Palabras clave: Volatilización del clomazone; Formulaciones del clomazone; Humedad del suelo; Control de capín; *Echinochloa colona*.

7. SUMMARY

Clomazone is a widely used herbicide in agriculture, and it is employed for weeds control like Equinocloa complex (*Echinochloa* spp.). Nevertheless, clomazone has a potentially high secondary drift risk due to their physicochemical properties, what could decrease weed control, damaging non-target organisms and polluting environment. The aim of this work was to quantify the fate of two clomazone formulations in the environment. We tested ME and CE clomazone formulations under wet soil dry soil, and the effect of this factors on the capin control. The experiment was carried out in a glasshouse in Estación Experimental "Dr. Mario A. Cassinoni" (EEMAC). The experimental design consisted of 16 treatments and three replicates distributed in a complete randomized design. The treatments came of the combination of three factors: formulation (microcapsule formulation and "emulsifiable concentrate"), soil humidity (dry soil which was saturated since 4 day from and wet soil which was saturated since 0 day), and Assessing time or evaluation time (2, 24, 96 y 120 hours after clomazone application). The analyzed response variables were clomazone concentration in soil and clomazone concentration in air. Moreover this experiment counted on a control treatment without clomazone application which allowed assesing capin control. Our results showed that soil humidity increased clomazone volatilization, mainly immediately after clomazone application (2 and 24 hours). Furthermore, dry soil volatilization presented lower and more constants values than wet soil. With respect to clomazone formulations we did not detect significant differences in dry soil, whereas in wet soil there wasn't a clear response. On the other hand, in regard to capin control, we did not find differences between any treatments. We concluded that a good capin control and decreases in clomazone loss outside the target area, could be achieved by using the recommended doses regardless the type of formulation employed. In addition, it would be recommendable not to applicate clomazone on saturated soil or nearby a rain event.

Keywords: Volatilization of Clomazone; Clomazone Formulations; Wet Soil; Barnyard grass control; *Echinochloa colona* (junglerice).

8. BIBLIOGRAFÍA

1. BCPC (British Crop Protection Council, UK). 2012. The Pesticide Manual: a World compedium. 16th.ed. Alton. 390 p.
2. Bollich, P. K.; Jordan, D. L.; Walker, D. M.; Burns, A. B. 2000. Rice (*Oryza sativa*) response to the microencapsulated formulation of clomazone. *Weed Technology*. 14 (1):89-93.
3. Cao, J.; Diao, X.; Hu, J. 2013. Hydrolysis and Photolysis of Herbicide clomazone in Aqueous Solutions. *Journal of Integrative Agriculture*. 12 (11):2074-2082.
4. Carlomagno, M. 2013. Desarrollo de inmunoensayos para el monitoreo de clomazone y quinclorac en el cultivo de arroz. Tesis Msc. en Ciencias Biológicas. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Química. 67 p.
5. Chamberlain, E.; Shi, H. L.; Wang, T. W.; Fulmer, A.; Adams, C. 2012. Comprehensive screening study of pesticide degradation via oxidation and hydrolysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 60:354- 363.
6. Chauhan, B. S.; Johnson, D. E. 2009. Germinación de semillas ecología de junglerice (*Echinochloa colona*): una importante maleza de arroz. *Weed Science*. 57 (03):235-240.
7. Cunha, J. ; Texeira, M.: Castillo, B.: Rodrigues, R. 2010. Tecnología de aplicación de agroquímicos: formulación de agroquímicos para el control de plagas. Alto Valle, INTA. 29 p.
8. Deambrosi, E.; Saldain, N. 2007. Manejo de Malezas. In: Jornada Anual de Arroz (2007, Treinta y Tres). Arroz: resultados experimentales 2006-2007. Montevideo, INIA. cap. 5, pp. 1-38 (Actividades de Difusión no. 502).
9. Dubey, R. 2009. Microencapsulation Technology and Applications. *Defence Science Journal*. 59 (1):82-95.
10. Ferhatoglu, Y.; Barret, M. 2006. Studies of clomazone mode of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 86(1):7-14.

11. Gabrilescu, M. 2005. Fate of pesticides in environment and its bioremediation. *Engineering in Life Sciences*. 5 (6):1618-2863.
12. Galon, L.; Agostinetto, D. 2009. Comparison of empirical models for predicting yield loss of irrigated rice (*Oryza sativa*) mixed with *Echinochloa* spp. *Crop Protection*. 28 (10):825-830.
13. Gressel, J. 2002. Preventing, delaying and mitigating gene flow from cropserice as an example. *In*: International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms (7th., 2002, Beijing, China). Book of abstracts. Beijing, s.e. pp. 59-77.
14. Gunasekara, A. S.; De La Cruz, I. D.; Curtis, M. J., Classen, V. P.;Tjerdema, R. S. 2009. The behavior of clomazone in the soil environment. *Pest Management Science*. 65 (6):711-116.
15. Hrusevar, D.; Mitic, B.; Sandev, D.; Alegro, A. 2015. *Echinochloa colona* (L.) Link (Poaceae), a new species in the flora of Croatia. *Acta Botánica Croática*. 74:159-164.
16. Kirksey, B. K.; Hayes, R. M.; Krueger, W. A.; Charles, A.; Mueller, T. C. 1996. Clomazone Dissipation in Two Tennessee Soils. *Weed Science*. 44 (4):959-963.
17. Knowles, A. 2008. Recent developments of safer formulations of agrochemicals. *Environmentalist*. 28:35-44.
18. Lavecchia, A.; Marchesi, C. 2009. Manejo de malezas. *In*: Jornada Anual de Arroz (2009, Tacuarembó). Arroz: resultados experimentales 2008-2009. Montevideo, INIA. cap. 5, pp. 1-7 (Actividades de Difusión no. 611).
19. Lee, D.; Senseman, S.; O'barr, J.; Chandler, J.; Krutz, L.; Mccauley, G. 2004. Soil characteristics and water potential effects on plant-available clomazone in rice. *Weed Science*. 2 (52):310–318.
20. Li, L.; Li, G.; Yang, R.;Guo, Z.; Liao, X. 2004. Clomazone dissipation, adsorption and translocation in four paddy topsoils. *Journal of Environmental Sciences*. 16 (4):678-682.
21. Lin, R. J.; Kuo, W. H. J. 1996. Seasonal changes in the germinability of buried seeds of *Echinochloa colinum* (L.) Link. and *Alopecurus*

aequalis Sobol. var. amurensis Komar. Memoirs of the National Taiwan University. College of Agriculture. 36 (3):232-244.

22. Liu, S.; Shocken, M.; Rosazza, J. N. 1996. Microbial Transformations of Clomazone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44:313–319.
23. Locke, M.; Smeda, K. D.; Howard, K.; Reid, J. 1996. Clomazone volatilization under varying environmental conditions. *Chemosphere*. 33 (7):1213-1225.
24. Loux, M. M.; Liebl, R.A.; Slife, F.W. 1989 Adsorption of clomazone on soils, sediments and clays. *Weed Science*. 37 (3):440–444.
25. Mandal, S.; Joardar, S.; Das, S.; Bhattacharyya, A. 2011. Photodegradation of hxythiazox in different solvent systems under the influence of ultraviolet light and sunlight in the presence of TiO₂, H₂O₂, and KNO₃ and identification of the photometabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59:11727-11734.
26. Marchesan, E.; Zanella, R.; De Ávila, L. A.; Camargo, E. R.; De Oliveira, S. L.; Macedo, V. R. 2007. Rice herbicide monitoring in two Brazilian rivers during the rice growing season. *Scientia Agricola*. 64 (2):131–137.
27. Marchesi, C.; Lavecchia, A. 2011. Manejo de malezas. *In*: Jornada Anual de Arroz (2011, Tacuarembó). Arroz: resultados experimentales 2010-2011. Montevideo, INIA. cap. 4, pp 1-24 (Actividades de Difusión no. 652).
28. Mervosh, T.; Sims, G.; Ellsworth, T. 1995a. Clomazone fate in soil as affected by microbial. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43:537–543.
29. _____.; _____.; _____. 1995b. Clomazone Sorption in Soil: incubation Time, Temperature, and Soil Moisture Effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43 (8):2295–2300.
30. MGAP. DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias, UY). 2019. Anuario estadístico agropecuario 2019. (en línea). Montevideo. 255 p. Consultado 13 oct. 2019. Disponible en <https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2019/Anuario2019.pdf>

31. Peerzada, A.; Bajwa, A.; Ali, H.; Chauhan, B. 2016. Biology, impact, and management of *Echinochloa colona* (L.). Crop Protection. 83:56-66.
32. Pereira, G. B. 2016. Sorption of clomazone in Brazilian soils with different physical and chemical attributes. Planta Daninha. 34 (2):357-364.
33. Quayle, W. C.; Oliver, D. P.; Zrna, S. 2006. Field Dissipation and Environmental Hazard Assessment. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 54 (19):7213-7220.
34. Saldain, N.; Deambrosi, E. 2009. Manejo de malezas. In: Jornada Anual de Arroz (2009, Treinta y Tres). Arroz: resultados experimentales 2008-2009. Montevideo, INIA. cap. 5, pp. 2-35 (Actividades de Difusión no. 571).
35. Schreiber, F.; De Avila, L. A.; Scherner, A.; Da Silva Moura, D.; Helgueira, D. B. 2013. Plantas indicadoras de clomazone na fase vapor. Ciência Rural. 43 (10):1817-1823
36. _____.; _____.; _____.; _____.; Telechea Martini, A. 2016. Volatility of clomazone formulations under field conditions. Revista Brasileira de Herbicidas. 15 (3):271-280.
37. Silva, L.; Silva, A.; D'antonio, L.; Queiroz, M.; Lima, C.; Freitas, F. 2012. Sorcao e dessorcao do ametryn em latos solos brasileiros. Planta Daninha. 30 (3):633-640.
38. Tenbrook, P.; Tjeerdema, R. S. 2005. Comparative actions of clomazone on beta-carotene levels and growth in rice (*Oryza sativa*) and watergrasses (*Echinochloa* spp.). Pest Management Science. 61:567-571.
39. Tomco, P.; Holsteg, E. D.; Zou, W.; Tjeerdema, R. 2010. Microbial Degradation of Clomazone under Simulated California Rice Field Conditions. Journal Agricultural and Food Chemistry. 58:3674-3680.
40. _____.; Tjeerdema, R. 2012. Photolytic versus microbial degradation of clomazone in a flooded. Pest Management Science. 68 (8):1141-1147.

41. Van Scoy, A. T.; Tjeerdema, R. 2014. Environmental Fate and Toxicology of Clomazone. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 229:35-49.
42. Vencill, W. K.; Hatzios, k. k.; Wilson, H. P. 1990. Absorption, translocation, and metabolism of ¹⁴C-clomazone in soybean (*Glycine max*) and three Amaranthus weed species. *Journal of Plant Growth Regulation*. 9:127-132.
43. Villalba, J.; Collazo, M.; Besil, N.; Rezende, S.; Cesio, V. 2016. Manejo de malezas. *In: Jornada Anual de Arroz (2016, Paysandú). Arroz: resultados experimentales 2015-2016. Montevideo, INIA. cap 3, pp. 25-29 (Actividades de Difusión no. 766).*
44. Wu, H.; Walker, S.; Osten, V.; Taylor, I.; Sindel, B. 2004. Emergence and persistence of barnyard grass (*Echinochloa colona* L. Link) and its management options in sorghum. *In: Australian Weeds Conference. Weed Society of New South Wales (14th, 2004, Sydney). Proceedings. Sydney, Weed Society of New South Wales. pp. 538-541.*
45. Zanella, R.; Primel, E.; Gonçalves, F.; Martins, M.; Adame, M.; Marchesan, E.; Machado, S. 2008. Study of the degradation of the herbicide clomazone in distilled and in irrigated rice field waters using HPLC_DAD and GC-MS. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 19 (5):987-995.