

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BUENOS AIRES – ITBA

ESCUELA DE TECNOLOGÍA



El control de malezas en el cultivo de *Zea mays*. Encapsulamiento y adsorción de los herbicidas como una alternativa para disminuir el impacto ambiental negativo derivado de su aplicación. Avances en el desarrollo de formulaciones de liberación controlada de atrazina, paraquat y 2,4-D

AUTOR: Vignolo, Patricia Julieta (Leg. N° 103720)

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'PV', is positioned to the right of the author's name.

DIRECTOR: Errea, María Inés

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'ME', is positioned to the right of the director's name.

TESIS PRESENTADA PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGÍSTER EN GESTIÓN AMBIENTAL

BUENOS AIRES

PRIMER CUATRIMESTRE, 2021

AGRADECIMIENTOS

“Comienza con el final en mente”.

Stephen Covey

La elaboración del presente trabajo de Tesis para finalizar el ciclo de la Maestría, no hubiera sido posible sin la participación, la guía, el aporte y el acompañamiento de un gran número de personas. A continuación, el agradecimiento para cada uno de ellos.

Al Ing. Julio Torti

Al Ing. Francisco Decono, por sus consejos, su buena predisposición y su seguimiento durante la elaboración de la presente Tesis.

A la Dra. María Inés Errea, por su guía, por su dedicación y compromiso y por sus aportes, todo lo cual posibilitó la elaboración y finalización del presente trabajo.

A la profesora Carmen Peralta Sanhueza

A mis padres, por su permanente motivación y por esta siempre presentes en forma constante e incondicional.

A mi familia y amigos, por acompañarme y brindarme su apoyo.

A mis compañeros de trabajo

A los miembros del Jurado, por sus aportes y observaciones, los cuales enriquecerán el presente trabajo.

RESUMEN

El cultivo de maíz en la Argentina se ha extendido significativamente en las últimas campañas, hecho que se refleja en el incremento del 60% del área sembrada en los últimos cinco años que lo posicionó en el segundo lugar después de la soja, con una producción, en la campaña 2019/2020, de 50 millones de toneladas. Al igual que en la mayoría de los cultivos agrícolas, una de las principales causas que puede afectar su rendimiento es la presencia de malezas y el principal método utilizado para efectuar el manejo de las mismas es la aplicación de herbicidas, entre los que se pueden mencionar la atrazina, el paraquat y el 2,4-D, que han sido seleccionados para ser analizados en este Trabajo de Tesis, por su relevancia para la preservación de los cultivos de maíz. La aplicación de herbicidas mediante formulaciones convencionales suele resultar poco eficiente, debido a la retención del principio activo en el suelo y a su degradación por estar expuesto al medio ambiente, entre otros factores. Para contrarrestar las pérdidas la práctica más común es la sobredosificación, con los consecuentes impactos negativos sobre la salud, el medio ambiente y la rentabilidad de los cultivos. Una de las alternativas tendientes a la resolución de la problemática planteada es la utilización de formulaciones de liberación controlada, que se basan en el encapsulamiento o la adsorción del principio activo para protegerlo del medio ambiente y disminuir su retención en el suelo por adsorción o lixiviación, disminuyendo la cantidad que debe ser aplicada para cumplir su función herbicida.

En este Trabajo de Tesis se realizó un relevamiento bibliográfico de los avances científicos recientes en el desarrollo de formulaciones de liberación controlada de atrazina, paraquat y 2,4-D. Del análisis crítico de los resultados presentados por los

diferentes autores surge un escenario alentador, dado que han demostrado tener la misma eficiencia de manejo de malezas con menor impacto ambiental. Lamentablemente, aun no hay muchas formulaciones de liberación controlada disponibles en el mercado, lo cual limita su utilización, pero a la vez es un incentivo para continuar investigando y trabajando en los procesos de regulación que permitan expandir la utilización de esta tecnología para el manejo de malezas.

INDICE	PÁGINA
AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	9
1.1 El cultivo de maíz. Fenología y desarrollo.....	9
1.1.1 Concepto de fenología agrícola.....	10
1.1.2 Escala fenológica y etapas de desarrollo.....	11
1.1.3 Etapas vegetativas:.....	14
1.1.4.Etapas reproductivas:	17
1.1.5.Factores que afectan el desarrollo	20
1.2. Las malezas en el cultivo de maíz	22
1.2.1 Definición de maleza	22
1.2.2 Efectos negativos de las malezas sobre el cultivo de maíz - Pérdidas ocasionadas 22	
1.2.3 Principales especies de malezas	23
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	25
2.1 Hipótesis	25
2.2.Objetivo general	26
2.3. Objetivos específicos	26
3. ESTADO DE LA TECNOLOGÍA	26
3.1 Programa de manejo y control de malezas – Control químico	26
3.1.1 Control de malezas en pre siembra	27
3.1.2 Control de malezas en pre y post emergencia.....	29
3.1.3 Herbicidas a utilizar en los períodos de pre y post emergencia	31
3.2 Familias químicas y estructura de los herbicidas.....	33
3.2.1 Familia triazinas: estructura de la atrazina	33
3.2.2 Familia bipiridilos: estructuras del paraquat y diquat	35
3.2.3 Familia ácidos fenoxicarboxílicos: estructura del 2,4-D.....	36
3.3 Mecanismo de acción de los herbicidas	38
3.3.1 Fase luminosa de la fotosíntesis – Cadena de transporte de electrones y herbicidas inhibidores de la fotosíntesis.....	39
3.3.2 Herbicidas secuestradores de electrones en el Fotosistema I – Paraquat	41
3.3.3 Herbicidas inhibidores de la fotosíntesis en el Fotosistema II – Atrazina	43

3.3.4 Herbicidas hormonales con acción similar al ácido indolacético (auxinas sintéticas) – 2,4-D	44
3.4 Destinos en el ambiente de los herbicidas agregados al suelo	45
3.4.1 Fases del suelo	45
3.4.2 Destinos en el ambiente	46
3.4.3 Retención de herbicidas	48
3.4.4 Transporte de herbicidas.....	49
3.5 Procesos de degradación de los herbicidas en el suelo.....	52
3.5.1 Degradación biológica de la atrazina.....	52
3.5.2 Degradación biológica del paraquat.....	53
3.5.3 Degradación biológica del 2,4-D	54
3.5.4 Persistencia	55
3.5.5 Toxicidad del 2,4-D, paraquat y la atrazina.....	57
3.6 Usos y presentaciones comerciales	58
3.6.1 Atrazina	58
3.6.2 Paraquat	59
3.6.3 2,4-D	61
4. DESARROLLO.....	62
4.1 Contaminación ambiental y nuevas tecnologías en la formulación de herbicidas ..	62
4.1.1 Formulaciones de liberación controlada	62
4.1.2 Encapsulamiento de herbicidas – Materiales utilizados.....	64
4.1.3 Adsorción de herbicidas – Materiales utilizados	71
4.1.4 Materiales y Métodos utilizados para la preparación y estudio de formulaciones de liberación controlada	73
4.1.4.1 Estudios relacionados con el proceso de adsorción.....	73
4.1.4.2 Eficiencia del encapsulamiento.....	74
4.1.4.3 Estudios de caracterización	75
4.1.4.4 Estudios de caracterización de las partículas	79
4.1.4.5 Estudios de detección y cuantificación del herbicida	80
4.1.4.6 Estudios de cinética de liberación.....	81
4.1.4.7 Bioensayos para la evaluación de toxicidad	84
4.1.4.8 Estudios de la actividad herbicida	89
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	89
5.1 Adsorción y encapsulamiento de herbicidas	89

5.1.1 Ensayos realizados con atrazina y resultados obtenidos.....	89
5.1.2 Ensayos realizados con paraquat y resultados obtenidos	100
5.1.3 Ensayos realizados con 2,4-D y resultados obtenidos	109
6. CONCLUSIONES	125
7. REFERENCIAS.....	128
8. ANEXO.....	138
8.1 Presentación elaborada para la defensa de la Tesis.....	138

1. INTRODUCCIÓN

1.1 El cultivo de maíz. Fenología y desarrollo

El maíz es un cereal de ciclo anual perteneciente a la familia Gramíneas. Las plantas de *Zea mays L.* son de porte robusto con un tallo erecto de elevada longitud, que no presenta ramificaciones y puede alcanzar los 4 metros de altura. Las hojas son lanceoladas y se disponen en forma alterna sobre el tallo principal.

En la Argentina, el 80% de la producción de este cultivo se concentra en la zona correspondiente al norte de la provincia de Buenos Aires, sudeste de Córdoba y sur de Santa Fe, denominada tradicionalmente como “zona núcleo maicera”, seguida por las provincias de Santiago del Estero, Entre Ríos, La Pampa y Chaco. De acuerdo a los datos de la Dirección de Estimaciones Agrícolas del Ministerio de Agricultura, en la campaña 2018/19 la superficie sembrada con maíz a nivel nacional fue de 9.093.877 ha y el total de producción alcanzó las 57.219.677 tn, lo que posicionó este cultivo como el segundo en importancia después de la soja.

Para poder estimar la fecha aproximada de ocurrencia y duración de cada una de las etapas del desarrollo de un cultivo, es esencial conocer e identificar cada una de ellas y, en base a ello, planificar las labores a realizar. En este contexto, a continuación, se define el concepto de fenología y se realiza una descripción detallada de las diferentes etapas fenológicas.

1.1.1 Concepto de fenología agrícola

La fenología es la ciencia que comprende el estudio y la observación de los estadios de desarrollo vegetativo y reproductivo de plantas y animales en relación con las condiciones ambientales (luz, temperatura, humedad, etc.) (Schwartz, M.,1999). A su vez, la fenología agrícola estudia las fases del desarrollo por las que atraviesa un

cultivo, basándose en los cambios morfológicos y fisiológicos de las plantas a medida que transcurre su ciclo de vida.

Los estudios fenológicos facilitan la toma de decisiones referidas al manejo de los cultivos, principalmente en relación con la aplicación de fertilizantes y pesticidas (herbicidas, insecticidas y fungicidas). Además, la profundización del estudio de las diferentes fases de los cultivos permite conocer los componentes del rendimiento que quedan fijados en cada una de ellas y analizar los factores ambientales que influyen en su duración. En base a esta información es posible predecir la adaptación o no de los cultivos a las diferentes zonas de producción, así como también su rendimiento potencial.

1.1.2 Escala fenológica y etapas de desarrollo

Las escalas fenológicas permiten identificar los estados de desarrollo del cultivo, entendiéndose por desarrollo a la progresión de una etapa a otra más avanzada. En el caso del maíz, la escala más utilizada a nivel nacional e internacional es la propuesta por Ritchie y Hanway (1982), que se basa en la utilización de caracteres morfológicos externos o macroscópicos para identificar los períodos vegetativo y reproductivo.

- ***Período Vegetativo:*** En la hoja del maíz se pueden diferenciar tres partes principales: el cuerpo, la vaina y el cuello (fig. 1). El cuerpo es la parte plana que intercepta la luz, la vaina es la parte que se envuelve alrededor del tallo y el cuello es la línea de demarcación entre el cuerpo y la vaina, que normalmente presenta una forma curva. Cuando el cuello se encuentra visible, se considera que la hoja está completamente extendida.

Las etapas del período vegetativo (V) se caracterizan por la presencia del cuello visible en las hojas emergidas y se identifican con la letra V y un subíndice que está asociado al orden de la última hoja completamente extendida al momento de la observación.

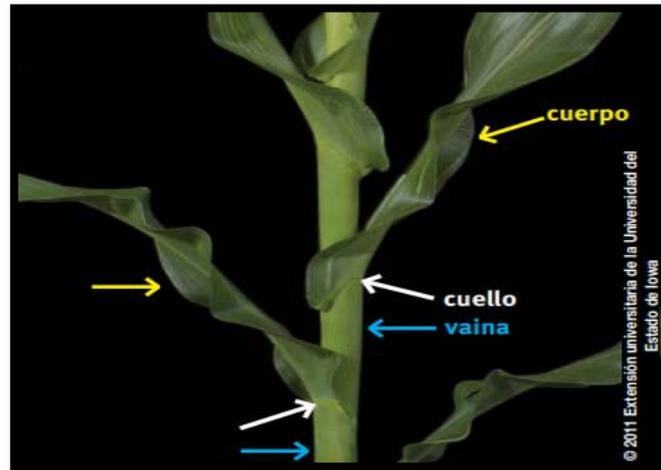


Figura 1. Hojas emergidas con cuello visible. Fuente: DuPont. Pioneer2015

Esta serie de etapas comienza con la emergencia (V_E) y continúa con cada hoja sucesiva (V_1, V_2, V_3, V_n), hasta la aparición de la panoja (V_T). La panoja es la flor masculina que produce el polen, mientras que la flor femenina (mazorca) produce los óvulos, que luego de la fecundación se convertirán en granos (fig. 2). Debido a la característica de hermafroditismo del maíz, ambas flores (masculina y femenina) se desarrollan en la misma planta, pero se encuentran separadas (fig. 3)



Figura 2. Panoja totalmente emergida (izquierda) y mazorca inmadura (derecha)

Fuente: DuPont. Pioneer. 2015



Figura 3. Separación vertical de flores en la planta. Fuente: DuPont. Pioneer. 2015

- **Período Reproductivo:** las etapas reproductivas (R) se caracterizan por la emergencia de los granos en la mazorca. Se identifican con la letra R y un subíndice. La primera etapa R_1 corresponde a la emergencia de los estigmas, momento en el cual estos son visibles fuera de las chalas que envuelven a la mazorca. Luego continúa la etapa R_2 , que corresponde al estado de cuaje o ampolla. Las etapas subsiguientes desde R_3 hasta R_5 corresponden al llenado de los granos. El período de llenado comienza desde el momento en el que se produce la fecundación hasta la formación de la “capa negra” o

tejido de abscisión, el cual se genera a partir de la necrosis de los haces vasculares que conectan al grano con los tejidos maternos. En la última etapa (R_6) los granos se consideran maduros fisiológicamente y además han alcanzado su peso seco máximo.

En la tabla 1 se resumen las etapas correspondientes a cada uno de los dos períodos y, a continuación, se presenta una breve descripción de los principales aspectos de cada una de ellas.

Tabla 1: Etapas de desarrollo del maíz. Adaptado de Abendroth et al; 2011

ETAPAS DE DESARROLLO DEL MAIZ		
PERÍODO	ETAPA	NOMBRE COMUN
VEGETATIVO	V_E	EMERGENCIA
	V_1	PRIMERA HOJA
	V_2	SEGUNDA HOJA
	V_3	TERCERA HOJA
	V_n	ENESIMA HOJA
	V_T	PANOJAMIENTO
REPRODUCTIVO	R_1	EMERGENCIA DE ESTIGMAS
	R_2	CUAJE DE GRANOS o ETAPA DE "BLISTER"
	R_3	GRANO LECHOSO
	R_4	GRANO PASTOSO
	R_5	GRANO DENTADO
	R_6	MADUREZ FISIOLÓGICA

1.1.3 Etapas vegetativas:

Germinación y emergencia (V_E)

Luego que la semilla es plantada, comienzan a ocurrir dentro de ella reacciones metabólicas y, si la humedad es adecuada y la temperatura del suelo superior a los 10 °C, la radícula empieza a crecer. Poco después de que la radícula emerge, tres o cuatro

raíces adicionales emergen también de la semilla que, junto con la raíz seminal, permiten la absorción de agua y nutrientes para la plántula.

En el caso del maíz ocurre primero lo que se denomina emergencia “hipogea”, en la que el cotiledón permanece debajo de la superficie. Luego, el mesocotilo se alarga y empuja la punta del coleóptilo hacia la superficie del suelo, dando lugar a la emergencia que se produce cuando el coleóptilo atraviesa la superficie del suelo. En ese momento la posición de la raíz principal se encuentra aproximadamente a 2 cm por debajo de la superficie del suelo (fig. 4). Posteriormente, las hojas embrionarias crecen a través del coleóptilo y la primera hoja verdadera emerge y marca el inicio de la etapa V_1 .

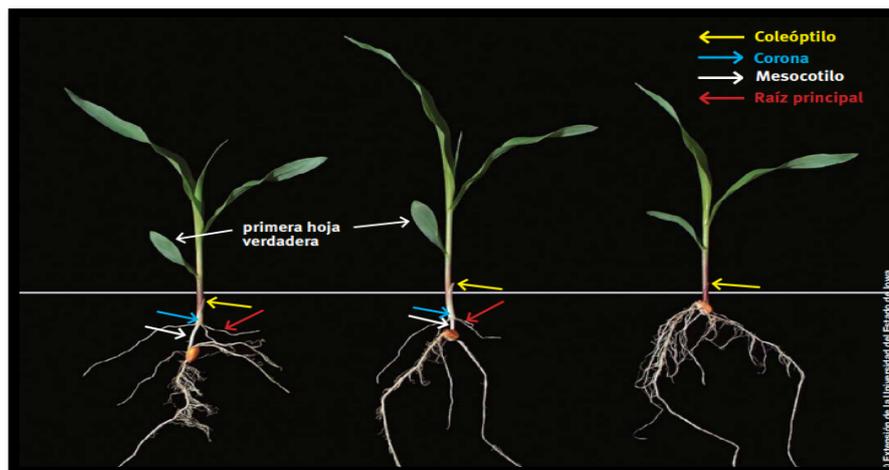


Figura 4. Ubicación del coleóptilo, la corona, la longitud del mesocotilo y la raíz principal a tres profundidades de siembra. Fuente: DuPont. Pioneer 2015

➤ *Etapa V_1*

La etapa V_1 termina cuando la primera hoja ha surgido completamente y el collar en ella es visible. Esta primera hoja tiene una punta redonda, mientras que en las siguientes las puntas son más puntiagudas.

➤ *Etapa V₂*

Esta etapa se alcanza cuando han surgido dos hojas en las cuales los collares son completamente visibles.

➤ *Etapa V₃*

Marca el inicio del proceso fotosintético y el final de la función de la semilla como la fuente de alimentación primaria. En esta etapa, a medida que las raíces aumentan de tamaño y empiezan a formar el pelo radical, la planta comienza a depender del sistema radicular nodal. Además, se detiene el crecimiento de la raíz seminal.

➤ *Etapas V₄-V₅*

Al igual que en las etapas anteriores, estas etapas se alcanzan cuando han surgido cinco hojas en las cuales el collar es visible.

➤ *Etapas V₆-V₁₁*

Durante estas etapas las plantas de maíz comienzan un período de elongación del nodo interno de manera muy rápida. Alrededor de la etapa V₆, el punto de crecimiento se desplaza por encima de la superficie del suelo. Debido a ello, en ese momento la planta es más propensa a sufrir lesiones que podrían dañar el punto de crecimiento. Además, en general alrededor de la etapa V₇, se establece la cantidad de hileras de granos en la mazorca. Es importante destacar que durante este período se deben tratar de evitar las situaciones de estrés, dado que podrían afectar el número de hileras de granos producidos generando un impacto negativo en el rendimiento.

➤ *Etapa V₁₂-V_T (panojamiento)*

Así como en el período anterior se establece la cantidad de hileras de granos, el número de granos por hilera se determina en las semanas previas a la aparición de las

panojas. En ese momento también es importante evitar las situaciones de estrés para no afectar el número de granos producidos.

➤ *Etapas de transición VT-R₁*

La transición del desarrollo vegetativo al reproductivo es un período crucial para la determinación del rendimiento en granos. El panojamiento (V_T) ocurre cuando la última rama de la panoja ha emergido y se extiende hacia afuera. En ese momento, el desarrollo vegetativo está completo y la planta ha alcanzado su altura máxima.

1.1.4. Etapas reproductivas:

➤ *Etapas R₁ - Emergencia de los estigmas*

Ocurre cuando los estigmas son visibles fuera de las chalas (fig. 5). En esta etapa también se produce la polinización, proceso en el cual los granos de polen caen en los estigmas y, posteriormente, ocurre la fertilización y los óvulos se convierten en granos. En este momento es muy importante evitar el estrés hídrico que se podría generar en condiciones de baja humedad, dado que puede causar la desecación de los estigmas y/o de los granos de polen, afectando por lo tanto el número de granos, que es el principal componente del rendimiento del cultivo.



Figura 5. Mazorca en R₁. Con chalas y estigmas (izq.) sin chalas y estigmas (derecha). Fuente: DuPont. Pioneer. 2015

➤ *Etapa R₂– Cuaje de granos o Etapa de “blíster”*

Esta etapa comienza entre 10 y 14 días después de la aparición de los estigmas. En ese momento los granos tienen alrededor del 85% de humedad y se asemejan a un blíster con un contenido interno de color claro (fig. 6). Durante esta etapa, las condiciones de estrés pueden producir la interrupción del crecimiento de los granos, si bien el riesgo es mayor en los días posteriores a la polinización.



Figura 6. Granos en etapa de “blíster”. Fuente: Nielsen, R.L. Purdue University. 2019

➤ *Etapa R₃- Grano lechoso*

Comienza entre 18 y 22 días después de la aparición de los estigmas, cuando los granos comienzan a mostrar el color final (amarillo o blanco). En esta etapa los granos tienen alrededor de un 80% de humedad, el líquido interior es blanco lechoso y llenan completamente el espacio entre hileras.

➤ *Etapa R₄- Grano pastoso*

Comienza entre 24 y 28 días después de la aparición de los estigmas. En esta etapa los granos tienen aproximadamente un 70% de humedad, a su vez el líquido interior se espesa y adopta una consistencia pastosa. En general, el estrés durante esta etapa no

afecta el crecimiento de los granos, pero puede afectar la tasa de acumulación de almidón y el peso promedio.

➤ *Etapa R₅-Grano dentado*

Ocurre entre 35 y 42 días después de la aparición de los estigmas. En esta etapa, los granos están compuestos de una capa externa de almidón duro que rodea a un núcleo más suave. Luego, cuando el núcleo comienza a perder humedad y se reduce, se forma una hendidura en la parte superior del grano. La cantidad de hendiduras dependerá de la genética y de las condiciones de crecimiento.

➤ *Etapa R₆-Madurez fisiológica*

Esta etapa comienza entre 60 y 65 días después de la aparición de los estigmas. Los granos poseen alrededor del 35% de humedad y han alcanzado su peso máximo. La capa de almidón duro ha avanzado hasta la punta del grano. Luego las células de la punta del grano pierden su integridad y caen haciendo que se forme la capa de absición denominada generalmente como “capa negra” (fig. 7). Una vez que la capa negra se ha formado, el almidón y la humedad no pueden ingresar ni salir del grano. Las condiciones de estrés en esta etapa ya no afectan el rendimiento del cultivo.



Figura 7. Progresión de la formación de la capa de absición negra. Fuente: DuPont.Pioneer. 2015

1.1.5. Factores que afectan el desarrollo

En función del genotipo y de las condiciones ambientales, especialmente la temperatura y el fotoperíodo, la duración de cada una de las etapas descritas anteriormente puede presentar una gran variabilidad. Por lo cual, para que se produzca el paso de una etapa fenológica a la siguiente, se requiere que el cultivo haya recibido una determinada cantidad de energía en forma de calor, es decir que hasta que el calor acumulado no haya sido suficiente, el cultivo no pasará a la siguiente etapa fenológica. (Gilmore, E., 1958).

Dado que, como se mencionó en el párrafo anterior, el tiempo cronológico depende de las variables ambientales, resulta mucho más útil expresar el tiempo de desarrollo de un cultivo en términos del tiempo fisiológico, que está relacionado a la cantidad de energía que recibió el cultivo en el período de tiempo evaluado, es decir el calor acumulado en ese período de tiempo. Uno de los métodos más utilizados para calcular el calor acumulado es el de Grados/ Día de crecimiento (GDD, por sus siglas en inglés). Este método tiene en cuenta que la temperatura mínima necesaria para que el cultivo de maíz pueda desarrollarse es 10°C (Martinez Alvarez, 2015). Las temperaturas por encima de la mínima a las que el cultivo estuvo expuesto se acumulan como GDD. Por ejemplo, la cantidad de GDD acumulados en un día sería nula si durante todo el día la temperatura se mantuviera en 10°C o menos. La Ecuación 1 muestra cómo se calculan los GDD y, la suma de los GDD acumulados durante un período determinado, sirve para estimar la evolución del desarrollo del cultivo (Ecuación 2).

$$GDD = \frac{(T_{min}+T_{max})}{2} - T_{base} \quad (1)$$

En donde: Tmin: Temperatura mínima diaria, Tmax: Temperatura máxima diaria
T base: Temperatura por debajo de la cual se detiene el crecimiento.

$$GDD \text{ acumulados} = \sum GD_{1 \rightarrow n} \quad (2)$$

En el caso del maíz, se necesitan aproximadamente entre 90-120 GDD para la emergencia. Mientras el punto de crecimiento se encuentra por debajo de la superficie del suelo, la velocidad de la germinación, la emergencia de las plántulas y el crecimiento posterior, estarán regidos por la temperatura del suelo en la zona cercana a la semilla. Por este motivo, los GDD del suelo cumplen un papel fundamental en esta etapa, que va decreciendo a medida que la plántula crece. En el caso de los GDD del aire, estos adquieren una influencia dominante cuando el punto de crecimiento atraviesa la superficie del suelo.

Dependiendo del genotipo, el requerimiento térmico del período entre la floración y la madurez relativa varía entre los 600 y los 900 GDD. Los rendimientos elevados en el cultivo de maíz se asocian con ambientes de alta radiación solar y elevada amplitud térmica (Cantarero *et al.*, 1999), debido a que temperaturas diurnas elevadas (alrededor de 30°C) posibilitan una elevada actividad fotosintética (Andrade *et al.*, 1997), y las temperaturas nocturnas bajas provocan una disminución de la respiración y un retraso del desarrollo fenológico, por lo cual aumentan los días de aprovechamiento de la radiación solar incidente (Sadras *et al.*, 2002).

Además de todas las variables mencionadas anteriormente, que pueden afectar el rendimiento del maíz, es importante mencionar a las malezas que, por competir con el cultivo por la luz, el agua y los nutrientes, así como también por actuar como hospedadoras de plagas y enfermedades, pueden ocasionar importantes pérdidas de

rendimiento. Por ese motivo, es fundamental un apropiado control de las malezas. En función de ello en la siguiente sección se profundiza el tema.

1.2. Las malezas en el cultivo de maíz

1.2.1 Definición de maleza

Las malezas son plantas indeseables en un contexto de lugar y tiempo determinado. La Sociedad Científica Europea las define como “cualquier planta o especie vegetal, excluidos los hongos, que interfiera con los objetivos o actividades humanas”. A su vez, la Sociedad Americana las engloba en la definición de “plantas que crecen en sitios donde no son deseables”. Estos conceptos, abarcan la idea de que, en un determinado momento, un cultivo puede ser considerado como maleza.

En términos generales, se pueden definir como especies vegetales que se encuentran altamente adaptadas al entorno y crecen de forma natural en zonas de producción agrícola y que poseen a su vez características tales como un elevado poder germinativo y un alto grado de dispersión.

Como se verá a continuación, la competencia generada por las malezas afecta el normal crecimiento y desarrollo de los cultivos, lo que se traduce en una disminución en el rendimiento.

1.2.2 Efectos negativos de las malezas sobre el cultivo de maíz - Pérdidas ocasionadas

El maíz es un cultivo de crecimiento inicial sumamente lento y, por lo tanto, ya desde la etapa de implantación, las malezas pueden ocasionar importantes daños, por lo cual es de suma importancia realizar un control temprano. El período crítico puede

extenderse hasta la etapa de crecimiento V_8 incluso V_9 , y las pérdidas ocasionadas pueden alcanzar valores de hasta el 95% del rendimiento (Papa, J., 2017).

Las pérdidas de rendimiento ocasionadas por las malezas en los cultivos pueden agruparse en dos categorías:

- **Directas:** Son las ocasionadas por efecto de la competencia entre las malezas y el cultivo de maíz por los nutrientes y/o el agua del suelo, y /o la posible alelopatía (producción por parte de las malezas de algún metabolito tóxico para el maíz), que traen como consecuencia alteraciones en el normal desarrollo del cultivo. En la zona núcleo maicera las pérdidas directas representan aproximadamente, entre un 10 y un 15 % del rendimiento. La disminución de la intensidad y frecuencia de laboreo de la tierra trae como consecuencia mayor presencia de malezas y por lo tanto un aumento de las pérdidas directas, siendo esta situación exacerbada ante la presencia de especies perennes (Rossi *et al.*, 2012).

- **Indirectas:** Son las ocasionadas por la interferencia de las malezas en el proceso de cosecha del cultivo, generando en la zona núcleo maicera pérdidas de rendimiento de alrededor del 3% (Bragachini *et al.*, 1995, Rossi *et al.*, 2012).

1.2.3 Principales especies de malezas

En la región “núcleo maicera”, las malezas se presentan en comunidades conformadas por diferentes especies que varían en su predominio dependiendo del sistema de producción. En el caso de la siembra directa, que se basa en la eliminación de la labranza, se generan condiciones en el suelo que favorecen la proliferación de *gramíneas anuales*, que pueden ocasionar pérdidas directas altamente significativas (Papa, J., 2017).

Entre las principales especies de *gramíneas* no deseadas se pueden mencionar:

- *Sorghum halepense* (*sorgo de Alepo*) (perenne)
- *Digitaria sanguinalis* (*pasto cuaresma*) (anual)
- *Brachiaria spp.*, (*pasto bandera*) (anual)
- *Eleusine indica* (*pata de ganso*) (anual)

Por otra parte, entre las principales especies de *latifoliadas* o de *hoja ancha*, que también suelen interferir en los cultivos de maíz, se encuentran:

- *Amaranthus hybridus* (*yuyo colorado*)
- *Conyza bonariensis* (*rama negra*)
- *Commelina erecta* (*flor de Santa Lucia*)
- *Cardus acanthoides* (*cardo negro*)
- *Brassicca spp.* (*nabo*)

Como se mencionó anteriormente, la presencia de malezas interfiere con el normal desarrollo del cultivo, por lo tanto, es fundamental ejercer métodos de manejo para minimizar las pérdidas en el rendimiento. Uno de los métodos de control más ampliamente difundido consiste en la aplicación de fitosanitarios, dentro de los cuales, los destinados al control de malezas se agrupan bajo el nombre de herbicidas. Según los datos del Censo Nacional Agropecuario del año 2018, de las hectáreas sembradas con maíz a nivel nacional, 5.426.360 fueron tratadas con herbicidas, 2.091.652 con insecticidas y 739.792 con fungicidas.

La utilización de herbicidas como método de control de malezas y las formulaciones de liberación controlada como alternativa para disminuir el impacto

ambiental generado por su uso, serán desarrollados y analizados en este Trabajo de Tesis.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

La aplicación de herbicidas para el control de malezas es una de las herramientas fundamentales para la producción agrícola de cultivos extensivos y, como consecuencia de los cambios en los sistemas de producción, en los últimos años su aplicación ha aumentado considerablemente.

Lamentablemente, los sistemas de aplicación tradicionales son altamente ineficientes, dado que el principio activo luego de ser aplicado sufre fotólisis, se hidroliza, sufre degradación por microorganismos, etc. y, por lo tanto, la proporción de utilización efectiva es sólo del 10 al 30 % (Xiang et al, 2018). Para compensar la baja eficiencia de la aplicación se emplean dosis de herbicidas mucho mayores a las que se requerirían si las pérdidas fueran menores, con el consecuente impacto económico y ambiental negativo.

Una alternativa para aumentar la eficiencia de la aplicación es proteger al herbicida del ambiente preparando partículas en las cuales el principio activo esté encapsulado o adsorbido dentro de una matriz que minimice su exposición a las condiciones ambientales, minimizando su degradación. Además, el encapsulamiento y/o la adsorción de los herbicidas podrían permitir su liberación controlada, es decir la liberación gradual del principio activo reduciendo su tiempo de exposición al medio ambiente y manteniendo la concentración mínima necesaria para ejercer el control de malezas.

2.2. Objetivo general

Evidenciar el impacto ambiental positivo del encapsulamiento y la adsorción de herbicidas como alternativas a utilizar en lugar de las formulaciones convencionales de los mismos.

2.3. Objetivos específicos

- Hacer un relevamiento bibliográfico de los avances en el campo del encapsulamiento, la adsorción y la liberación controlada de los herbicidas atrazina, paraquat y 2,4-D, comúnmente empleados en el cultivo de maíz.
- Investigar los mecanismos de acción de los herbicidas seleccionados.
- Analizar la dinámica e impacto ambiental de los herbicidas en estudio en las formulaciones convencionales y en los sistemas de liberación controlada.
- Realizar un análisis crítico de las posibles ventajas de las formulaciones de liberación controlada frente a las formulaciones convencionales.

3. ESTADO DE LA TECNOLOGÍA

3.1 Programa de manejo y control de malezas – Control químico

El control químico de las malezas por aplicación de herbicidas puede ser implementado en cualquiera de las etapas que se indican a continuación. La conveniencia del momento de la aplicación estará determinada por el tipo de cultivo y las especies de malezas involucradas.

- **Pre siembra**
- **Pre emergencia del cultivo**
- **Post emergencia del cultivo**

3.1.1 Control de malezas en pre siembra

En el período de tiempo que transcurre entre la cosecha de un cultivo y la siembra del siguiente se almacenan en el suelo los recursos necesarios (agua y nutrientes) para el desarrollo del cultivo posterior (Papa, J., 2017). La longitud del período entre cultivos está definida por el esquema de rotación de los cultivos pudiendo, por lo tanto, ser largo o corto.

- *Corto (2 meses - entre un cultivo estival y uno invernal)*. Es el caso de un cultivo de soja cosechado a fin de marzo, seguido por la siembra de trigo en los primeros días de junio.

- *Largo (7-8 meses - entre dos cultivos estivales)* Es el caso, por ejemplo, de un cultivo de soja cosechado a fin de marzo, seguido por la siembra de maíz a fines de noviembre. (Ponsa, J., 2016)

Durante el período de pre siembra se implementan prácticas tendientes al control de malezas, para evitar que estas consuman los recursos que necesitará el siguiente cultivo. En los sistemas de siembra directa estas prácticas consisten en la aplicación de herbicidas, que son el componente fundamental del denominado “barbecho químico”, que se define como el período de transición entre dos cultivos en el que el suelo se mantiene libre de malezas mediante la aplicación de herbicidas.

Para el caso de barbechos largos, se requiere la utilización de herbicidas residuales, también llamados suelo-activos, que se aplican directamente en el suelo y, luego de penetrar en el mismo, forman una película en su superficie. Este tipo de herbicida, luego de ser aplicado permanece activo durante un período de tiempo,

generando el denominado “efecto residual”. Es muy importante conocer la extensión aproximada del efecto residual, para conocer el período de tiempo en el cual el control de las malezas será efectivo y establecer el momento óptimo para la aplicación evitando que su efecto genere daños por fitotoxicidad en los cultivos posteriores. En el caso de la atrazina, por ejemplo, el efecto residual tiene una duración de entre 2 a 6 meses (Rainero *et al.*, 2011), mientras que en el caso del 2,4-D es, aproximadamente, de una a cuatro semanas (Lagarde y Bedmar, 2003).

Por lo tanto y en base a lo expuesto, al momento de seleccionar el principio activo a utilizar deberán considerarse los siguientes aspectos (Ponsa, J., 2016):

- *Especies de malezas presentes*: la correcta identificación de los individuos y el conocimiento de su ciclo (anual/perenne), así como su tamaño, densidad y nivel de tolerancia, definirán los principios activos y las dosis a utilizar.
- *Efecto residual del principio activo sobre el cultivo posterior*: como mencionamos anteriormente, para evitar que el efecto residual del herbicida afecte el cultivo posterior, uno de los datos fundamentales a tener en cuenta es la residualidad del mismo, considerando, además, que la influencia de factores, tales como la materia orgánica, la textura y la humedad del suelo, entre otros, pueden variar el comportamiento de los herbicidas una vez que entran en contacto con la superficie del mismo (Vicari *et al.*, 1994, Cepeda *et al.*, 2001; Bazzigalupi *et al.*, 2001). Por lo tanto, el período de tiempo recomendable entre la aplicación del herbicida y la siembra del próximo cultivo dependerá en parte de las características de cada región.

En la Argentina, en el estadio de pre siembra comúnmente se utiliza la atrazina, la cual puede aplicarse solo o en mezcla con otros principios activos.

3.1.2 Control de malezas en pre y post emergencia

Como se mencionó anteriormente, el maíz es un cultivo que presenta un lento crecimiento inicial y, en general, el período crítico de competencia con las malezas coincide con las primeras etapas de crecimiento. Para evitar la competencia con las malezas en los primeros 25-30 días después de la emergencia, se utilizan herbicidas pre emergentes con acción residual.

Los herbicidas de acción pre emergente controlan las malezas desde las primeras etapas de su ciclo de vida, más concretamente durante la germinación y la emergencia, momentos en los cuales las plantas son más vulnerables y su control más eficaz. Para el éxito de este tratamiento es fundamental que la humedad del suelo sea adecuada, dado que las semillas de las malezas, en general, se encuentran a una profundidad entre 3 y 5 cm del suelo y el herbicida debe penetrar hasta dicha profundidad para poder cumplir su función y, en la penetración del herbicida, la humedad del suelo tiene un rol crítico.

Lamentablemente, ante la ocurrencia de precipitaciones abundante los herbicidas son lixiviados hacia horizontes de mayor profundidad en el suelo y, esa situación sumada a que en algunas ocasiones la residualidad de los herbicidas aplicados no resulta lo suficientemente prolongada para mantener el lote libre de malezas durante la emergencia del cultivo, todo ello conlleva a la necesidad de aplicar herbicidas post emergentes para frenar el crecimiento de las malezas.

Al igual que en el caso de la aplicación de herbicidas pre siembra, al aplicar herbicidas pre o post emergentes, como el 2,4-D, es importante considerar el momento de aplicación para evitar la generación de fitotoxicidad en el cultivo de maíz. En este caso, las manifestaciones de fitotoxicidad en el maíz por uso inapropiado del 2,4-D incluyen malformación de hojas, encorvamiento de plantas, tallos quebradizos y/o

malformación de raíces adventicias, lo cual afecta la estabilidad de las plantas y puede generar pérdidas en el rendimiento.

La eficiencia de control de malezas dependerá de diversos factores, entre los cuales se encuentran:

- *Tipo y volumen de rastrojo* - el rastrojo se encuentra formado por los restos de hojas y tallos que quedan en el terreno después de la cosecha de un cultivo, y cumplen un rol clave en la cobertura del suelo en los sistemas de producción de siembra directa. Cuando la materia seca del rastrojo en la superficie es superior a 3000 kg / ha, la llegada de los herbicidas al suelo disminuye significativamente (Banks y Robinson, 1983; Wicks *et al.*, 1994). Además, la naturaleza del rastrojo del cultivo anterior también es importante. En este sentido, durante la aspersión del herbicida, el rastrojo de soja, por ejemplo, retiene menos producto que el rastrojo de maíz.
- *Humedad del suelo* - a mayor contenido de agua en el suelo, mayor es la disponibilidad del herbicida para las plántulas de malezas en proceso de emergencia. En líneas generales, la eficiencia de estos productos para controlar las malezas está supeditada a la posibilidad de ser absorbidos en el suelo gracias a las precipitaciones que deben ocurrir en los 10 a 15 días posteriores a la aplicación.
- *Contenido de materia orgánica (MO) y textura* – La materia orgánica y las arcillas son los principales responsables de la adsorción de los herbicidas en el suelo (Zimdahl, R. 1992). Por tal motivo, el contenido de materia orgánica del suelo es uno de los indicadores a considerar para establecer las cantidades de principio activo que deben ser aplicadas.

- *pH* – ciertos herbicidas son sensibles al pH y, de acuerdo al pH del suelo, pueden hallarse en estado neutro, aniónico (carga negativa) o catiónico (carga positiva). La afinidad de los herbicidas con el suelo varía en función de la carga. Dado que las arcillas y la materia orgánica del suelo están cargados negativamente, las moléculas cargadas positivamente se verán fuertemente atraídas por las cargas negativas del suelo, mientras que las cargadas negativamente serán repelidas. Aquellos herbicidas que tengan mucha afinidad con el suelo estarán menos disponibles para ejercer su acción de control de malezas.
- *Estructura química del herbicida* - el grado de retención de los herbicidas por la biomasa vegetal presente en la superficie del suelo depende, entre otros factores, de la estructura química del herbicida.
- *Especies presentes* - las especies perennes como el *sorgo de Alepo*, el *gramón*, el *cebollín* y las *enredaderas*; requieren un análisis más profundo al momento de decidir la táctica de control químico más adecuada, dado que, algunas de ellas, presentan una menor susceptibilidad a los herbicidas más frecuentemente utilizados. Por el contrario, para las gramíneas anuales lo más habitual es la aplicación de atrazina en combinación con algún graminicida.

3.1.3 Herbicidas a utilizar en los períodos de pre y post emergencia

En las tablas 2 y 3, se resumen los principios activos más utilizados para el control de malezas en estadios de pre y post emergencia, así como también las dosis recomendadas, las especies que controlan y los porcentajes referidos al nivel de control logrado con cada uno de ellos. En general, y especialmente con las gramíneas, los

tratamientos resultan más efectivos si se realizan cuando las malezas aún son pequeñas, es decir que poseen de 2 a 4 hojas.

Tabla 2: Control de malezas en estadio de pre emergencia. Adaptado de Rossi et al., 2012

PRINCIPIO ACTIVO	DOSIS (lts/ha)	YUYO COLORADO	QUINOA	CHAMICO	NABO	ENREDADERA ANUAL	PASTO CUARESMA	GRAMON	SORGO DE ALEPO
ATRAZINA + DIMETENAMIDA	(1,5 - 2,5) + (1-2)	C	C	C	C	C	C	C	C/P
ATRAZINA + ALACLOR	(3-3,5) + (3-3,5)	C	C	C	C	C	C	C	C/P
ATRAZINA + ACETOCLOR	(1,5-2,5) + (1.5-2,5)	C	C	C	C	C	C	C	C/P
ATRAZINA + PENDIMETALIN	(2,5-3,5) + (3,5-4,5)	C	C	C	C/P	C	C	C	C
METRIBUZIN + ATRAZINA	1,7-2,6	C	C	C	C	C	C	C	-
IMAZETAPIR + PENDIMETALIN	3,5-4	C	C	C	C	S/I	C	C	C

Nivel de control - C (control de 86-100%), C/P (control de 76-85%), - (control de 0-60%), S/i (sin información)

Tabla 3: Control de malezas en estadio de post emergencia. Adaptado de Rossi et al., 2012

PRINCIPIO ACTIVO	DOSIS (lts/ha)	YUYO COLORADO	QUINOA	CHAMICO	NABO	ENREDADERA ANUAL	PASTO CUARESMA	GRAMON	SORGO DE ALEPO
GLIFOSATO (post emerg temprana)	2-6	C	C	C	C	C	C	C	C
2,4-D ESTER/SAL AMINA	0,3-0,5	C	C	C	C	-	-	-	-
2,4-D ESTER + PICLORAN	(0,25-0,35) + (0,10-0,12)	C	C	C	C	-	-	-	-
2,4-D + DICAMBA	(0,25 - 0,35) + (0,10-0,20)	C	C	C	C	-	-	-	-
PARAQUAT	1,5-3	C	C	C	C	-	-	S/I	S/I

Nivel de control - C (control de 86-100%), C/P (control de 76-85%), - (control de 0-60%), S/i (sin información)

En líneas generales, el modelo agrícola actual ha pretendido que la química, mediante el uso de herbicidas, controle a la biología, simplificando de esta manera la toma de decisiones. Lamentablemente, este modelo no ha tenido en cuenta que el uso excesivo de herbicidas genera riesgos tanto para el medio ambiente como para la salud de la población. Debido a ello, y, a partir de un mayor conocimiento de los riesgos potenciales asociados al uso de herbicidas, los controles en cuanto a su utilización y detección han cobrado una mayor importancia a nivel social. En este sentido, la legislación ambiental mundial ha establecido límites permitidos de residuos de plaguicidas en aguas y alimentos que son cada vez son más estrictos.

A continuación, se presenta un análisis de tres herbicidas, seleccionados por ser muy utilizados en nuestro país: la atrazina, el paraquat y el 2,4-D en relación con el tipo de especies que controlan, su impacto ambiental y su toxicidad.

3.2 Familias químicas y estructura de los herbicidas

Los compuestos que componen una familia química tienen en común el poseer el mismo grupo funcional y, por lo tanto, propiedades y modo de acción similar.

3.2.1 Familia triazinas: estructura de la atrazina

Los herbicidas de la familia triazinas tienen gran importancia agronómica a nivel mundial por su rol en la protección de cultivos. Los mismos poseen un anillo heterocíclico aromático, análogo al del benceno, en el cual 3 átomos de nitrógeno sustituyen a 3 átomos de carbono. Hay tres posibles isómeros estructurales que difieren en las posiciones ocupadas por los átomos de nitrógeno: 1,3,5-triazina, 1,2,4-triazina y 1,2,3-triazina (fig. 8).

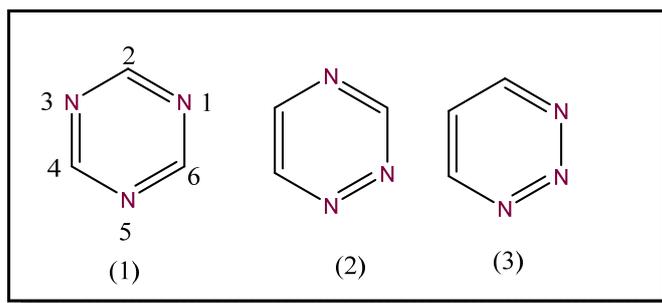


Figura 8. Isómeros estructurales. (1) 1,3,5-triazina; (2) 1,2,4-triazina; (3) 1,2,3-triazina

De los tres isómeros, el que tiene importancia en el campo de la agronomía es la 1,3,5-triazina, también llamada *s-triazina*, de la cual derivan los herbicidas triazínicos. Estos herbicidas se obtienen por reemplazo de los H de las posiciones 2, 4 y 6 del anillo, por diversos sustituyentes. La posición 2 puede estar sustituida por un *cloruro* (Cl) (fig. 9a), por un grupo *metoxi* (-OCH₃) (fig. 9b), o por un grupo *tioalquilo* (-SCH₃) (fig. 9c). En el caso de las posiciones 4 y 6, el sustituyente es siempre una amina primaria.

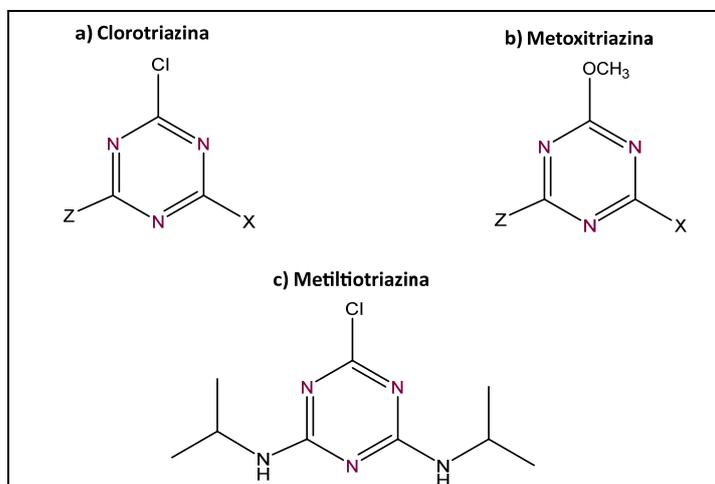


Figura 9: Estructura química de los derivados de la triazina

El nombre del derivado triazínico está relacionado con el sustituyente de la posición 2: si es un grupo *metoxi* el nombre del compuesto termina en *-ton* (*prometon*), si se trata de un *grupo tioalquilo* termina en *-trin* (*ametrina*, *prometrina* y *terbutrina*), y en el caso de que el sustituyente sea el *cloro*, el nombre termina en *-azina* (*atrazina*,

simazina, propazina y cyanazina) (Pacáková *et al.*, 1996; Abbas *et al.*, 2015). La estructura química de las *clorotriazinas* se muestra en la figura 10.

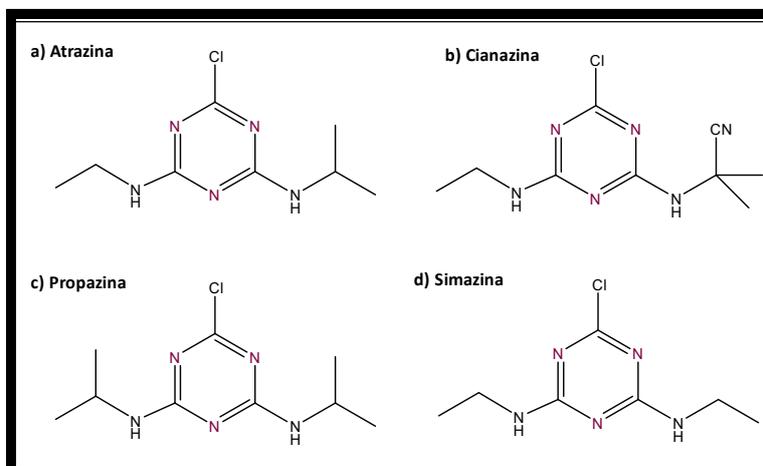


Figura 10. Estructura química de las clorotriazinas

Dentro de las clorotriazinas, la atrazina (2-cloro-4-etilamina-6-isopropilamina-1,3,5-triazina), fig. 10a), es la más utilizada.

3.2.2 Familia bipiridilos: estructuras del paraquat y diquat

Los herbicidas pertenecientes a esta familia son el paraquat (fig. 11a) y el diquat (fig. 12b), (sales de amonio de la 4,4'-bipiridina). En el caso del cultivo de maíz, el diquat se utiliza sólo como desecante químico, mientras que el paraquat se emplea como desecante y herbicida para el control de malezas en estadio de post emergencia. El paraquat es de aplicación foliar y actúa por contacto, es eficiente para el control de malezas *latifoliadas* y *gramíneas anuales*, y no es apto para el control de *gramíneas perennes*.

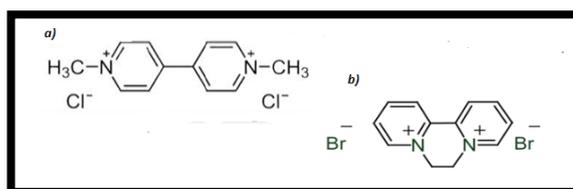


Figura 11: Estructura química de las moléculas. a) paraquat, b) diquat

Como se mencionó anteriormente, en el cultivo de maíz estos herbicidas se utilizan, también, como desecantes químicos para acelerar el momento de la cosecha. Para esta función se aplican en estadios cercanos a la madurez y se recomienda que, al momento de la aplicación, los granos tengan un contenido de humedad menor al 40%. (Lacerda *et al.*, 2003). En general, se recurre a la desecación química en los casos de siembras tardías, porque los maíces tardíos alcanzan la madurez fisiológica durante el otoño, cuando las temperaturas medias descienden, la humedad relativa aumenta y son frecuentes los eventos de precipitaciones, por lo que el proceso de secado del grano, hasta alcanzar la humedad requerida para la cosecha, puede ser lento. La lentitud del secado, sumado al hecho que, bajo estas condiciones, se favorece la incidencia de plagas (malezas e insectos) y enfermedades (Ferraguiti *et al.*, 2016), promueve el uso de desecantes químicos.

Entre el paraquat y el diquat, el paraquat (dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridinio) es el más ampliamente utilizado, especialmente como desecante químico, a nivel nacional e internacional (Bellé *et al.*, 2014). Sus propiedades herbicidas fueron descubiertas en el año 1955 y, a partir del año 1962, comenzó a estar disponible a nivel comercial.

3.2.3 Familia ácidos fenoxicarboxílicos: estructura del 2,4-D

Los herbicidas pertenecientes a esta familia comenzaron a estar disponibles a nivel comercial en el año 1946 (Gupta, P., 1989), pero su uso comenzó a popularizarse a partir del año 1947, convirtiéndose en una de las familias de herbicidas más utilizada en la actualidad (Gupta, P., 2017). En particular, el 2,4-D (ácido (2,4-diclorofenoxi)acético)

(fig. 12) es un herbicida selectivo, post emergente y sistémico, que se utiliza para el control de malezas latifoliadas.

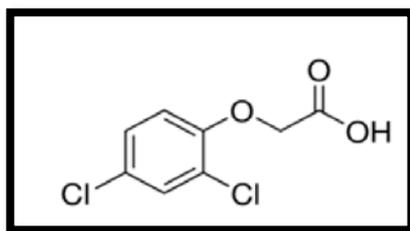


Figura 12. Estructura química de la molécula de 2,4-D

Durante la Guerra de Vietnam, el 2,4-D era mezclado en proporciones iguales con el 2,4,5-T, otro herbicida de similares características. La mezcla de ambos herbicidas fue conocida como “Agente Naranja”, cuyo nombre hacía referencia a la banda de color que identificaba los tambores en los cuales dicha mezcla era almacenada. En el sur de Vietnam, el agente naranja era rociado desde el aire sobre las zonas de bosques, manglares y cultivos, a los fines de desfoliar la vegetación en dichas áreas y provocar la muerte de los cultivos y, de esa forma, privar a las fuerzas militares de alimento y de lugares donde esconderse (Crouse C, 2014).

Se estima que durante el conflicto se pulverizaron aproximadamente 42 millones de litros de esta mezcla de herbicidas (Palmer M, 2005). Un estudio llevado adelante entre los años 1994-98 confirmó que la aplicación de desfoliantes generó la destrucción del 50% de los manglares de Vietnam, y afectó el ecosistema de forma irreversible (Tuyet Nham y Johansson, 2001), provocando también un gran daño a la población que estuvo expuesta. No obstante, se comprobó que los principales daños a la salud humana habían sido causados por las dioxinas, presentes como traza por el proceso industrial de síntesis del 2,4,5-T, y no por el herbicida en si mismo.

3.3 Mecanismo de acción de los herbicidas

El término mecanismo de acción hace referencia a la interferencia bioquímica o biofísica causada por un herbicida en el sitio de acción, que será determinante del daño final producido. Si bien, en general, los herbicidas comúnmente poseen más de un mecanismo de acción, su clasificación se realiza en base al mecanismo de acción primario, es decir aquel que más contribuye a la alteración de los procesos metabólicos.

En el caso del paraquat y la atrazina, ambos interfieren en el proceso de fotosíntesis, pero poseen diferentes mecanismos de acción, dado que la interferencia ocurre en diferentes etapas del proceso. El paraquat, ejerce su acción “secuestrando” electrones a nivel del Fotosistema I, mientras que, en el caso de la atrazina, actúa afectando el proceso de transporte de electrones a nivel del Fotosistema II.

Con respecto al 2,4-D, el mismo pertenece a los llamados “herbicidas hormonales” (auxinas sintéticas). Las auxinas, son hormonas vegetales naturales que regulan muchos aspectos del desarrollo y crecimiento de plantas. Entre sus funciones principales se encuentran la promoción de la elongación celular, la inhibición del crecimiento de las raíces primarias, la mediación en la respuesta a tropismos y la inducción del desarrollo de flores y frutos. La síntesis de las auxinas ocurre mayormente en meristemos apicales y tejidos jóvenes, desde donde son transportadas hacia el resto de la planta. La auxina natural más abundante es el ácido indolacético (AIA) (Jordan y Casaretto, 2006).

El AIA, así como las demás auxinas, son producidas por las plantas de manera natural y su concentración es regulada. Las auxinas sintéticas, como el 2,4-D, en dosis muy bajas actúan de manera similar a las auxinas naturales, pero en dosis elevadas son tóxicas y alteran el desarrollo normal de las plantas, observándose un crecimiento en

exagerado, desordenado y desproporcionado, que finaliza con la muerte de la planta, debido a que no encuentra un mecanismo de control interno.

A continuación se describen con mayor detalle los diferentes mecanismos de acción de la Atrazina, el Paraquat y el 2,4-D.

3.3.1 Fase luminosa de la fotosíntesis – Cadena de transporte de electrones y herbicidas inhibidores de la fotosíntesis

La fotosíntesis es el proceso por el cual las plantas autótrofas son capaces de generar energía química a partir de energía lumínica. Este proceso tiene lugar en los cloroplastos (fig. 13). Los cloroplastos poseen en su interior un material rico en proteínas llamado *estroma* y en su membrana, donde se encuentra la clorofila (pigmento fotosintético), es donde ocurren las reacciones correspondientes a la fase luminosa de la fotosíntesis, llamada así porque es dependiente de la luz solar.

El proceso fotosintético comienza en el Fotosistema II (FS II) cuando la luz es absorbida por la clorofila y los carotenoides, que están asociados a complejos proteicos. En el inicio del proceso, la energía solar es absorbida por la clorofila, quien transfiere un electrón a otro pigmento denominado feofitina. La feofitina transfiere el electrón a la plastoquinona A (PQ_A), una molécula orgánica lipídica asociada al FS II. La PQ_A transfiere el electrón a un hierro no-hemínico Fe²⁺, que a su vez lo transfiere a la plastoquinona B (PQ_B). De esta forma, la PQ_B pasa a su forma reducida, denominada hidroquinona (Q_BH₂). Esta última, difunde hasta alcanzar el complejo proteínico llamado Citocromo b₆f (Cyt b₆f) (fig. 14).

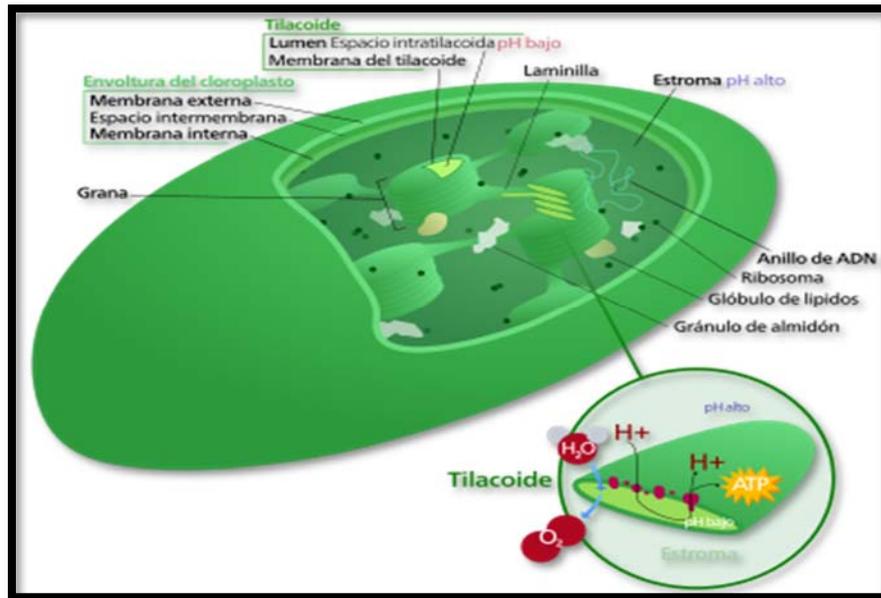


Figura 13. Estructura interna del cloroplasto

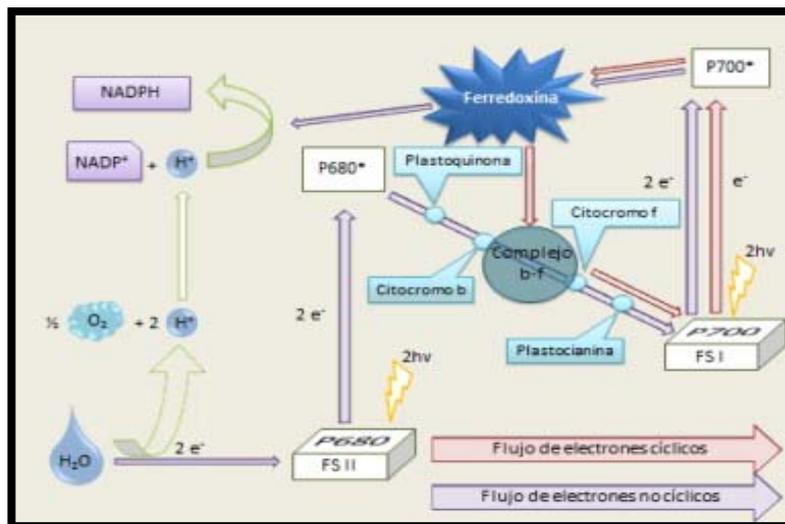


Figura 14. Transferencia de electrones en la fotosíntesis. Fuente: Franco y Castillo, 2013

A continuación, el Cyt b_6f transfiere los electrones recibidos al fotosistema I. Esta transferencia de electrones es mediada por la plastocianina (PC), que es una proteína soluble en agua y funciona en el espacio interno de la membrana tilacoidal (lumen). Esta última, al transferir el electrón al FS I, pasa a un estado oxidado. Luego, en el FS I, intervienen una serie de transportadores, entre los cuales se encuentran la filoquinona

(A₁), los centros hierro-azufre (Fe-S) y la ferredoxina (fd). La ferredoxina es una proteína cuya principal función es interconectar el FS I con la enzima final que reduce el NADP⁺, llamada ferredoxina-NADP⁺ oxidoreductasa (FNR). Esta enzima, alternadamente cataliza la reducción del NADP⁺ a NADPH, que se utilizará en el Ciclo de Calvin para la fijación del CO₂.

Los herbicidas que actúan inhibiendo o modificando la fotosíntesis, pueden clasificarse como: *inhibidores del transporte de electrones, desacopladores, inhibidores de la transferencia de energía, inhibidores-desacopladores y aceptores (o secuestradores de electrones)* (Rao V, 2002). Sin embargo, de los mecanismos de acción antes mencionados sólo se han comprobado como importantes el *Desvío o Secuestro de electrones en el Fotosistema I* y la *Inhibición del Fotosistema II* (Anzalone A, 2007). A continuación, se describen ambos casos de forma más detallada.

3.3.2 Herbicidas secuestradores de electrones en el Fotosistema I – Paraquat

Como se mencionó anteriormente, dentro de este grupo se encuentra el paraquat. La capacidad del paraquat de secuestrar electrones a nivel del Fotosistema I se debe a que posee un potencial redox superior al de la ferredoxina, por lo cual, compite con esta proteína por el flujo de electrones en la cadena de transporte (fig. 15). Este es el motivo por el cual muchos investigadores afirman que esta clase de herbicidas posee la capacidad de “secuestrar” los electrones en ese nivel de la cadena de transporte (Anzalone A, 2007).

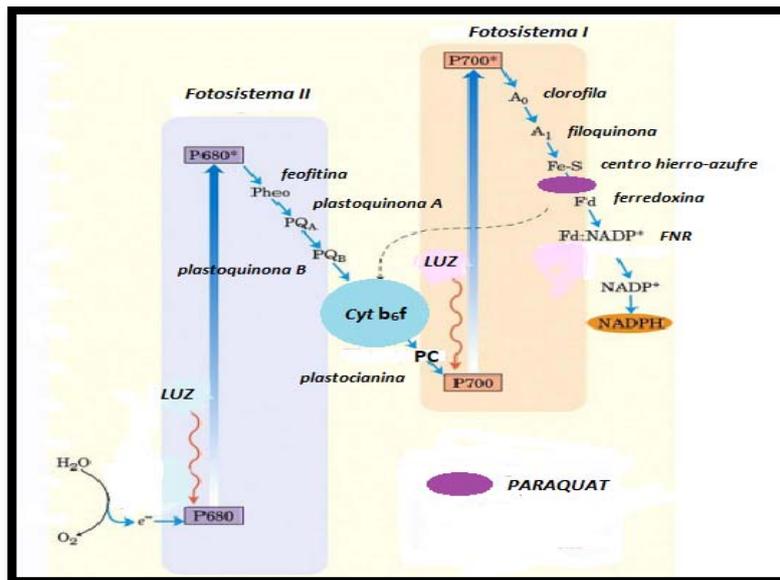


Figura 15. Sitio de acción del paraquat en la cadena de transporte de electrones

Después de recibir el electrón, la forma reducida del paraquat es muy reactiva y puede reducir el oxígeno a superóxido (1O_2). En ausencia de herbicidas, los superóxidos y otros radicales libres son generados por las plantas en el proceso conocido comúnmente como “estrés oxidativo”. Sin embargo, ante la aplicación de herbicidas como el paraquat, debido a la elevada cantidad generada de estas especies, el sistema de disipación de la planta se ve sobrepasado y la planta es incapaz de manejar la alta concentración de estos radicales libres, que a su vez generan otros compuestos químicos altamente reactivos como el radical hidroxilo ($OH\cdot$). Dichos compuestos contribuyen a la oxidación de los lípidos de las membranas celulares que provoca una rápida destrucción del tejido. Debido a la alta velocidad a la que se destruyen los tejidos, el daño producido en las especies susceptibles se manifiesta rápidamente, siendo evidente en las primeras 2 a 4 horas luego de la aplicación. Los daños comienzan a manifestarse con signos de deshidratación del tejido tratado, seguido de un “bronceado” de las hojas (adquieren una coloración oscura), que al poco tiempo se torna en una necrosis (muerte del tejido).

3.3.3 Herbicidas inhibidores de la fotosíntesis en el Fotosistema II – Atrazina

Como se mencionó anteriormente, dentro de este grupo se encuentra la atrazina que actúa sobre el Fotosistema II, interfiriendo el transporte de electrones desde la PQ_A a la (PQ_B) (Fig. 16). En este caso, la molécula del herbicida compite con la PQ_B por el sitio de acople en la proteína D1 del FS II.

En condiciones normales, la PQ_B interacciona con la proteína D1 vía dos enlaces de hidrógeno. Luego, la PQ_B al aceptar los dos electrones provenientes de la PQ_A se reduce y abandona el sitio de acople como PQ_B reducida. A continuación, una plastoquinona B no reducida se une a la proteína D1 y el flujo de transferencia continúa.

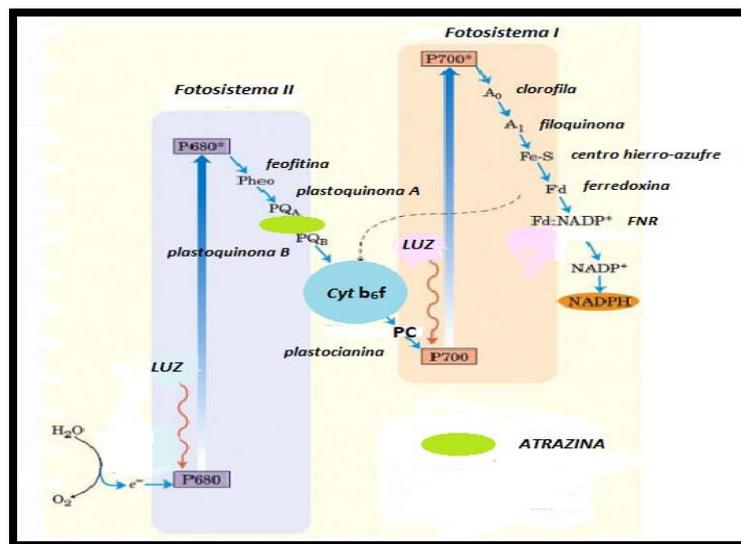


Figura 16. Sitio de acción de la atrazina en la cadena de transporte de electrones

La atrazina se une a la proteína D1, actuando como un análogo de la PQ_B . Pero, la molécula del herbicida, al ser no reducible, no puede aceptar los electrones provenientes de la plastoquinona A, concretándose de esta manera la inhibición del flujo de electrones. Es importante destacar que la molécula de herbicida presenta una mayor afinidad con los sitios de acople de la proteína D1 que la PQ_B (Anzalone A, 2007).

Como consecuencia de la interrupción del flujo de electrones, la clorofila, al no poder transferir la energía que absorbe, queda en un estado de excitación y forma clorofila triplete, que reacciona con el oxígeno formando superóxidos, radicales hidroxilos, y otras formas altamente oxidantes, que provocan un daño irreversible a los lípidos de las membranas celulares ocasionando la muerte de las células.

3.3.4 Herbicidas hormonales con acción similar al ácido indolacético (auxinas sintéticas) – 2,4-D

En este grupo se encuentra el 2,4-D. Esta clase de herbicidas actúan de forma similar a las auxinas o fitohormonas vegetales, dentro de las cuales la principal en las plantas superiores, como se mencionó anteriormente, es el *ácido indolacético (AIA)*. La actividad de las auxinas estimula la ocurrencia de procesos tales como la elongación y división celular, la diferenciación de los meristemas florales, el fototropismo, la senescencia como así también la dominancia apical y la formación de raíces.

Los herbicidas pertenecientes a este grupo son de acción sistémica. Una vez que son aplicados se absorben principalmente por el follaje, aunque también pueden hacerlo, en menor medida, a través de las raíces (Grossmann *et al.*, 2001). Una vez que son absorbidos se transportan hacia los puntos de crecimiento (Sterling, T. 1994). El grado de absorción varía en función del tipo de formulación, por ejemplo, los ésteres son más fácilmente absorbidos que las sales

Con respecto al mecanismo de acción, algunos autores sugieren que la aplicación de los herbicidas del tipo auxinas sintéticas desencadena en algunas partes de la planta una descoordinación del crecimiento de forma tal que culmina con la muerte o senescencia (Salisbury y Ross, 2000). Otros autores señalan que algunos de los efectos

comunes a esta clase de herbicidas podrían estar asociados a la sobreproducción de etileno (Duke y Dayan, 2001)

Luego de analizar los mecanismos de acción de los herbicidas objetivo de esta Tesis, se presenta su dinámica ambiental.

3.4 Destinos en el ambiente de los herbicidas agregados al suelo

3.4.1 Fases del suelo

Como hemos ya mencionado en las secciones anteriores, dependiendo del tipo de aplicación existen dos clases de herbicidas: los que se aplican directamente al suelo, también llamados residuales o suelo activos, y los de aplicación foliar de los cuales, al momento de la aplicación, aproximadamente el 50% del producto pulverizado cae al suelo. Por tal motivo, resulta relevante presentar una descripción de las distintas fases del suelo.

El suelo es un material poroso, en el que pueden distinguirse tres fases: sólida, gaseosa y líquida. La fase sólida ocupa entre el 50 y el 60% del volumen total, y está formada por componentes inorgánicos (minerales) y orgánicos (materia orgánica). La fracción orgánica comprende materia orgánica y microorganismos, mientras que la fracción mineral se encuentra compuesta por arena, limo y arcillas en diferente proporción dependiendo del tipo de suelo.

La fase líquida ocupa entre un 25-30% del volumen y está compuesta por agua, en la que se encuentran disueltos nutrientes y sales, mientras que la fase gaseosa está compuesta por gases como el nitrógeno, el oxígeno y el dióxido de carbono, y el volumen ocupado por la misma se ubica entre un 15 y 20%.

La fracción sólida del suelo es porosa y los poros están ocupados por las fracciones líquidas y gaseosas. El tamaño y la distribución de los poros del suelo es un punto clave, dado que influye de manera directa sobre la capacidad de almacenamiento y retención de agua y nutrientes. Dentro del espacio poroso se pueden distinguir macro y microporos. Los primeros, debido a que poseen un mayor tamaño, presentan una menor capacidad de retención de líquidos y el agua percola con mayor facilidad. Por el contrario, los microporos retienen más el agua. Por lo tanto, la capacidad del agua para transportar las moléculas del herbicida dependerá del tamaño y continuidad de los poros presentes en el perfil del suelo.

3.4.2 Destinos en el ambiente

En la imagen de la figura 17, se representa los diferentes destinos que puede tener un producto fitosanitario en el ambiente. A nivel del suelo, el destino está gobernado por los procesos de retención, transporte y degradación, que pueden estar interrelacionados. En el caso puntual de la actividad agrícola estos procesos cobran una importancia considerable, dado que suelen ser los responsables de que la cantidad de herbicida originalmente aplicada disminuya, generando la necesidad de realizar mayor cantidad de aplicaciones. Que un proceso predomine sobre otro va a depender de las propiedades físico-químicas del principio activo y de las características del suelo.

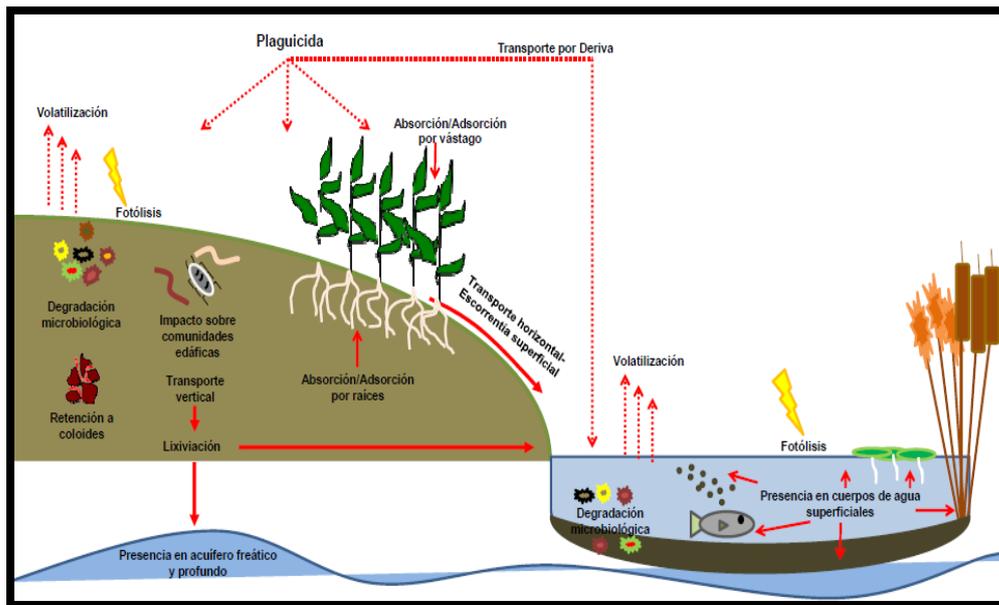


Figura 17. Destinos del plaguicida en el ambiente. Fuente: Aparicio et al., 2015

En líneas generales, una vez que el herbicida ingresa al suelo, se reparte entre las fases líquida, sólida y gaseosa y, dependiendo de la fase en cuestión, tendrá diferentes destinos:

- Fase líquida: el herbicida se encuentra disponible para ser transportado o degradado por procesos químicos, físicos o microbiológicos. También puede ocurrir que se transporte con el agua hacia capas más profundas del suelo (lixiviación) y alcance el agua subterránea.
- Fase sólida: el herbicida es retenido con variada intensidad por los coloides del suelo (materia orgánica y arcillas). El nivel de retención (sorción) dependerá de las propiedades químicas del herbicida, de las características fisico-químicas del suelo y del clima (principalmente de la cantidad de precipitaciones).
- Fase gaseosa: el herbicida se incorpora a la atmósfera como consecuencia del proceso de volatilización. En este caso, la tendencia de cada compuesto a volatilizarse

dependerá de su presión de vapor, como así también de la temperatura ambiente al momento de la aplicación.

Los procesos de retención, transporte y degradación antes mencionados tendrán diferente relevancia, dependiendo de las características del suelo, del principio activo considerado y del tipo de aplicación (foliar o al suelo).

3.4.3 Retención de herbicidas

La retención es un proceso físico en el que no se generan cambios en la naturaleza química de la molécula, y se produce una acumulación del herbicida en la superficie o en el interior de las partículas del suelo (Sposito G, 2008). La retención generalmente se expresa como sorción, siendo este, el término más comúnmente utilizado que incluye los procesos de adsorción y desorción.

La adsorción es un proceso que ocurre como consecuencia de la interacción entre la superficie de los coloides del suelo (materia orgánica y arcillas) y el herbicida, dominada por interacciones electrostáticas. La adsorción afecta la actividad y disipación de los herbicidas en el suelo, debido a que las moléculas fuertemente adsorbidas por los coloides no se encuentran disponibles para ser absorbidas por las plantas ni degradadas por los microorganismos, disminuyendo, además, la movilidad y el potencial de lixiviación del herbicida. En contraposición, los herbicidas que interactúan más débilmente con los coloides del suelo resultan más eficientes para el control de malezas, dado que se encuentran más disponibles para ser absorbidos por estas. La capacidad de ionización de las moléculas del herbicida influye fuertemente en la adsorción, dado que, como se mencionó anteriormente, los coloides del suelo en general están cargados negativamente, por lo que se generan interacciones más fuertes con los herbicidas que

poseen cargas positivas, como por ejemplo el paraquat, y repelen a los que tienen cargas negativas. En el caso de la atrazina y del 2,4-D, al ser una base y un ácido débil, respectivamente, la adsorción se verá fuertemente influenciada por el pH del suelo. El 2,4-D, es eléctricamente neutro a pH ácido y adquiere cargas negativas a pH mayor a 6, mientras que la atrazina adquiere cargas positivas cuando el pH es bajo, pudiendo por lo tanto adsorberse fuertemente en suelos de esta característica.

Las variaciones en las propiedades del suelo a medida que aumenta la profundidad también influyen en la adsorción y en el movimiento de los herbicidas (Jenks *et al.*, 1998). Los herbicidas se adsorben mayoritariamente en las capas superficiales porque son las que contienen mayor proporción de materia orgánica (Sonon, L. 1992),

3.4.4 Transporte de herbicidas

Dentro de los procesos de transporte, se pueden distinguir tres tipos fundamentales: el escurrimiento, la lixiviación y la volatilización. En los dos primeros el movimiento del agua es el principal mecanismo de transferencia del herbicida hacia el agua superficial y subterránea, respectivamente. El transporte de los herbicidas a través del agua (responsable de la lixiviación y el escurrimiento) puede ser convectivo, dispersivo o difusivo. El más simple es el transporte convectivo, en el cual, las moléculas del soluto siguen el movimiento del flujo del agua (Costa, J. 1995) sin desviación del transporte medio del flujo acuoso, y a una velocidad igual a la velocidad media de desplazamiento del flujo. La dispersión hace referencia al desplazamiento del herbicida a una velocidad que se aleja de la idealidad del flujo convectivo, es decir a una velocidad diferente de la media del flujo acuoso. Por otra parte, la difusión hace referencia al desplazamiento de las moléculas del herbicida como consecuencia de un gradiente de

concentración, desde las zonas de mayor concentración hacia zonas de menor concentración. La difusión puede ocurrir aún en ausencia de flujo hidráulico y cesa cuando desaparece el gradiente de concentración. Cuando la velocidad del flujo es baja, la difusión es el proceso predominante en el movimiento del herbicida, mientras que cuando la velocidad es alta, el efecto de la difusión suele considerarse despreciable.

Con respecto al proceso de transporte del herbicida por volatilización, el mismo dependerá de la presión de vapor del compuesto, de la fuerza de la interacción con el suelo y de su solubilidad en agua, además, por supuesto, de factores ambientales (principalmente temperatura y humedad) y de las características del suelo (pH y humedad). La volatilización en general se produce inmediatamente después de la aplicación disminuyendo la eficiencia de control (Gutierrez y Arregui, 2005). Como se mencionó anteriormente, la volatilización puede ocasionar contaminación de la atmósfera y causar daño en cultivos sensibles cercanos al lugar de la aplicación. Como ejemplo del daño que puede causar por volatilización un herbicida a cultivos sensibles, se puede mencionar el caso del cultivo de algodón en la Argentina, extremadamente sensible al 2,4-D. En las provincias de Chaco, Santiago del Estero y Tucumán donde se cultiva el algodón, el 2,4-D se emplea en el barbecho químico, previo a la siembra de los cultivos de maíz y soja, en un período que abarca desde diciembre hasta mediados de enero; momento en el cual el cultivo de algodón se encuentra ya emergido y en pleno desarrollo. En las figuras 18, 19 y 20 se muestran los daños significativos en el algodón, como consecuencia de su exposición al 2,4-D. Los primeros síntomas pueden observarse a los 2 a 3 días después de realizada la aplicación y los síntomas plenos del daño sobre la hoja aparecen aproximadamente una semana después (CSD, 2018).



Figura 18. Síntomas de afección por deriva de 2,4-D en planta de algodón. Fuente: Mondino, M. (2020). EEA Santiago del Estero. INTA.



Figura 19. Hojas afectadas por la exposición al 2,4-D (izq.) y hoja normal (derecha). Fuente: Mondino, M. (2020). EEA Santiago del Estero. INTA.



Figura 20. Sintomatología de afección en flores. A la izquierda afectadas y a la derecha no afectadas. Fuente: Mondino, M. (2020). EEA Santiago del Estero. INTA.

3.5 Procesos de degradación de los herbicidas en el suelo

3.5.1 Degradación biológica de la atrazina

Si bien la atrazina puede degradarse por mecanismos tanto bióticos como abióticos, el principal mecanismo de degradación de este herbicida es el que se lleva a cabo por la acción de comunidades de bacterias nativas, entre las cuales se incluyen miembros de los géneros *Pseudomonas*, *Nocardioides*, *Arthrobacter*, *Agrobacterium* y *Ralstonia*, entre otros (Pinelli *et al.*, 2012). Por ejemplo, Mandelbaum *et al.*, (1995), demostraron que una bacteria del género *Pseudomonas sp.* metabolizó la atrazina al utilizarla como fuente de nitrógeno durante su crecimiento.

La vía de degradación bacteriana predomina en aquellos suelos considerados como “adaptados”, en los cuales se han realizado sucesivas aplicaciones del herbicida a lo largo del tiempo (Mahía Saavedra, J. 2012). La degradación bacteriana puede ser llevada a cabo por un único microorganismo o por consorcios de bacterias en los cuales cada especie tiene solo algunos de los genes necesarios para llevar adelante la

degradación, y entre todas se complementan para degradar la molécula total o parcialmente (Yan *et al.*, 2010).

Los metabolitos desetilatrazina (DEA), desisopropilatrazina (DIA), desetildeisopropilatrazina (DEDIA) y el ácido cianúrico se forman como productos intermedios de la degradación y varían en cuanto a su persistencia y toxicidad (Sorenson *et al.*, 1994; Da Cunha *et al.*, 2012)

Cuando la degradación de la molécula es completa, obteniéndose como productos sólo compuestos inorgánicos, el proceso se describe como mineralización. En el caso de la atrazina, la mineralización implica la ruptura del anillo para dar amonio (NH_4^+) y dióxido de carbono (CO_2) (Pinelli *et al.*, 2012). Existen evidencias que demuestran que la posibilidad que haya mineralización depende tanto de las propiedades del suelo (principalmente el contenido de materia orgánica y arcilla), como de la adaptación de las comunidades microbianas (Hang y Nassetta, 2003).

Si bien en la superficie del suelo las condiciones pueden favorecer la degradación y retención del herbicida, el comportamiento en el subsuelo es más difícil de predecir, aunque se sabe que los horizontes más profundos poseen una menor capacidad de degradación de los plaguicidas por presentar menor contenido de materia orgánica. Hang y Nassetta (2003), por ejemplo, determinaron que la degradación de la atrazina decrece con la profundidad en diferentes perfiles de suelo, lo cual implica un riesgo de contaminación del agua sub superficial.

3.5.2 Degradación biológica del paraquat

Como se mencionó anteriormente, los coloides del suelo están cargados negativamente, por lo cual, dado que el paraquat es un herbicida catiónico, es

fuertemente adsorbido por las partículas del suelo, encontrándose menos disponible para su degradación por parte de los microorganismos.

Si bien la degradación biológica de dicho compuesto ha sido poco estudiada, se piensa que el paraquat podría ser degradado por los hongos de la podredumbre blanca (HPB), dado que se sabe que dichos microorganismos son capaces de degradar compuestos que presentaran estructuras químicas similares a las del paraquat. Lamentablemente, si bien hay estudios preliminares que muestran que los HPB podrían degradar, al menos parcialmente, al paraquat, no hay estudios concluyentes (Camacho-Morales *et al.*, 2017).

3.5.3 Degradación biológica del 2,4-D

El 2,4-D es un compuesto susceptible a la degradación fotoquímica y además se biodegrada con facilidad en el suelo y en el agua. La tasa de degradación depende del historial del suelo y de la adaptación de los microorganismos al principio activo (Wu *et al.*, 2017). Como se mencionó anteriormente, se consideran suelos “adaptados” aquellos en los cuales se han realizado sucesivas aplicaciones del mismo herbicida a lo largo del tiempo.

De acuerdo a la bibliografía, la cantidad de microorganismos capaces de atacar la cadena lateral de la molécula del herbicida es mayor en comparación con los que son capaces de atacar la porción aromática de la molécula, sin bien algunos poseen la capacidad de actuar sobre ambas partes (Stibal *et al.*, 2012).

Se han descrito diferentes especies de bacterias y hongos capaces de utilizar el 2,4-D como fuente de carbono y energía. Entre los géneros bacterianos más comúnmente citados se encuentran *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Ralstonia*, *Delftia*,

Arthrobacter y *Burkholderia*, (Akintui *et al*, 2015), mientras que en el caso de los hongos figuran *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Mucoromycota* y *Mortierella* (Serbent *et al.*, 2019). Además, de igual manera que el paraquat, el 2,4-D también puede ser degradado por los hongos de la podredumbre blanca.

Como resultado de la degradación biológica en condiciones aeróbicas, el primer metabolito que se genera es el 2,4 diclorofenol (2,4-DCP). Posteriormente, la degradación del 2,4-DCP da como resultado la formación de diferentes metabolitos que difieren en función del microorganismo responsable de la degradación. Por ejemplo, la metabolización del 2,4-DCP por parte de *Mortierella sp.* generó la formación de los siguientes metabolitos aromáticos: clorohidroquinona (CHQ), 3,5-diclorocatecol (3,5-DCC), 3,5-dicloroguaiacol (3,5-DCG) y 4,6-dicloroguanacol (4,6-DCG) (Nakagawa *et al*, 2006).

Si bien, comúnmente, como resultado de la biodegradación se generan metabolitos de menor toxicidad, en algunas instancias la toxicidad de estos últimos puede ser superior a la del compuesto original (Serbent *et al.*, 2019), como en el caso de los clorocatecoles y las clorohidroquinonas

Por otra parte, como en el caso de la atrazina, el 2-4-D puede ser mineralizado dando como resultado la formación de dióxido de carbono y agua. Jacobsen y Pedersen (1992), verificaron la mineralización en el suelo por parte de *Alcaligenes Eutrophus* y *Pseudomonas cepacia*.

3.5.4 Persistencia

Un concepto que se relaciona con la degradación es la persistencia, la cual se define como el período de tiempo durante el cual el herbicida conserva sus propiedades

físicas, químicas y funcionales luego de ser aplicado. Este concepto en general se asocia con la posible pérdida de actividad ocasionada por la degradación de origen biológico. Se expresa a través del tiempo de vida media ($t_{1/2}$), que representa el tiempo que debe transcurrir para se degrade la mitad de la dosis aplicada, pudiendo expresarse también como Tiempo de Disipación 50 (DT₅₀, por sus siglas en inglés).

En general, el concepto de vida media se utiliza en la elaboración de estudios ambientales y, en líneas generales, se considera que los plaguicidas más persistentes poseen un mayor potencial de contaminación (Barriuso *et al.*, 2000).

A continuación, en la tabla 4 se muestran los valores del DT₅₀ (días) correspondientes a algunos herbicidas muy utilizados y se destacan los tres herbicidas analizados en este Trabajo de Tesis (atrazina, paraquat y 2,4-D).

Tabla 4. Vida media de los herbicidas. Adaptado de Panaggio, 2019. INTA

Vida Media muy corta		Vida media corta		Vida media moderada-larga		Vida media larga	
Herbicida	DT	Herbicida	DT	Herbicida	DT	Herbicida	DT
Carfentrazone	0,1	Acetoclor	12	Glifosato	47	Paraquat	1000
Setoxidim	5	Dicamba	14	Atrazina	60		
Fluroxipir	7-14			Clopiralid	71		
Fenoxaprop	9			Imazetapir	60-90		
2,4-D (éster)	10			Picloram	90		

Del análisis de la tabla 4 se desprende que la atrazina posee una vida media moderadamente larga de 60 días, mientras que el 2,4-D (éster) y el paraquat se encuentran en extremos opuestos, con valores de 10 días y 1000 días, respectivamente. La elevada persistencia en el caso del paraquat se debería, fundamentalmente, a que el mismo, al ser fuertemente adsorbido por las partículas del suelo, se encuentra menos disponible para ser degradado por los microorganismos. Sin embargo, si bien es más

persistente, la inmovilidad generada por la adsorción hace que presente un bajo riesgo de contaminación del agua subterránea.

3.5.5 Toxicidad del 2,4-D, paraquat y la atrazina

Como se discutió previamente, los herbicidas son potenciales contaminantes del suelo y el agua que pueden ocasionar diferentes afecciones a la salud humana o animal.

En el caso de la atrazina, exposiciones de corta duración en seres humanos provocan el enrojecimiento de los ojos y pueden causar efectos en el sistema nervioso central. Si la exposición es prolongada o recurrente puede producir dermatitis o sensibilización de la piel, pudiendo, también, afectar el hígado y los riñones. Además, este compuesto se considera ligeramente tóxico para la vida acuática (Graymore *et al.*, 2001), y es un inductor de hermafroditismo en ranas en bajas concentraciones tales como 0,1 µg/L (Hayes *et al.*, 2002). En relación con la carcinogénesis, la información disponible no permite determinar en forma definitiva si la atrazina produce cáncer en seres humanos. Si bien la Agencia para la Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) determinó que existe evidencia de carcinogenicidad del herbicida en animales, hasta el momento no se pudo comprobar la carcinogénesis en humanos (EPA, 2003).

En el caso del paraquat, la EPA lo ubica, con respecto a su toxicidad, en la categoría I (mayor toxicidad) por sus efectos en caso de inhalación, en la categoría II para la vía oral y en la categoría III para la exposición dérmica (Li *et al.*, 2004), dado que en seres humanos no presenta niveles significativos de absorción a través de la piel sana (Smith J, 1988). Hay, además, evidencia epidemiológica de que la exposición crónica al paraquat podría estar asociada al desarrollo de la enfermedad de Parkinson (Li *et al.* 2004).

En el caso del 2,4-D, la excesiva inhalación puede provocar irritación al tracto respiratorio, dolor de cabeza, mareos, náuseas, convulsiones, dependiendo de la concentración y del tiempo de exposición. Además, el contacto con ojos y piel durante la aplicación puede causar irritación. La ingestión, aunque es poco probable, puede causar daños al sistema gastrointestinal. Respecto al riesgo carcinogénico, si bien la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), emitió una revisión en la cual clasificó al 2,4-D como posible cancerígeno para los seres humanos, según la opinión consensuada de un comité de expertos en el tema no hay suficientes pruebas en humanos para poder determinar la carcinogenicidad asociada al 2,4-D (IARC, 2015).

3.6 Usos y presentaciones comerciales

3.6.1 Atrazina

Como se mencionó anteriormente, la atrazina es un herbicida de acción básicamente sistémica y residual, selectivo para los cultivos de maíz y sorgo. Su acción se orienta principalmente al control de especies *latifoliadas anuales*. Para controlar especies *gramíneas* se emplea mezclado con algún graminicida, como por ejemplo el acetoclor o la simazina. En general, se utiliza como pre emergente, aunque también puede aplicarse en post emergencia temprana sobre las malezas recientemente emergidas.

➤ *Presentaciones comerciales*

En la tabla 5 se listan las distintas presentaciones comerciales de la atrazina en la Argentina y su correspondiente clasificación toxicológica establecida por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), que es la autoridad que regula la clasificación y etiquetado de los productos fitosanitarios.

Tabla 5: Presentaciones comerciales de atrazina en la Argentina

NOMBRE COMERCIAL	EMPRESA	FORMULACIÓN	CONCENTRACIÓN (%)	CLASE TOXICOLÓGICA
TRAC 50 FL	ATANOR	SC	50%	II
TRAC 90 WG	ATANOR	WG	90%	III
ATRAZINA 50 NUFARM	NUFARM	SC	50%	IV
ATRAZINA 90 WG NUFARM	NUFARM	WG	90%	IV
ATRAZINA DOW AGROSCIENCES	DOW	SC	50%	IV
GESAPRIM 90 WDG	SYNGENTA	WG	90%	IV
H - ATRAZINA 50	YPF	SC	50%	IV

WG- gránulos dispersables, SC- suspensión concentrada

CLASE TOXICOLÓGICA II- moderadamente peligroso

CLASE TOXICOLÓGICA III- ligeramente peligroso

CLASE TOXICOLÓGICA IV- productos que normalmente no presentan peligro

Si bien la dosis a utilizar varía en función de la especie y el estado fenológico de las malezas a controlar, el tipo de suelo y la zona del país, en líneas generales la dosis promedio empleada en el cultivo de maíz es de 2 l/ha.

3.6.2 Paraquat

A pesar de su elevada toxicidad, es comercializado en 100 países alrededor del mundo, incluidos los mercados agrícolas con las regulaciones más estrictas como Estados Unidos, Canadá, Australia, Japón y Nueva Zelanda. Su amplia difusión podría deberse a una serie de ventajas dentro de las cuales se encuentran (Dinis-Oliveira *et al.*, 2008):

- Bajo costo y un amplio espectro de control
- Alta hidrofiliidad
- Rápida inactivación e inmovilización una vez en contacto con el suelo

- El diámetro de las partículas pulverizadas, generalmente mayores a los 100 mm; son de un tamaño demasiado grande para alcanzar los alveolos pulmonares en los seres humanos lo cual previene la ocurrencia de intoxicación por inhalación

Sin embargo, la Unión Europea a partir del año 2007 prohibió su utilización (Wen-Tien, T. 2013). De manera similar, Brasil en base a las evidencias relacionadas con la toxicidad aguda, la asociación con la enfermedad de Parkinson y la potencialidad de ser mutagénico, en el año 2017 también prohibió su utilización mediante la Resolución 177/2017 de la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA).

Es un herbicida post emergente, de contacto y no selectivo, por lo cual debe aplicarse antes de la emergencia del cultivo. Si bien controla un amplio espectro de malezas, es particularmente efectivo para controlar gramíneas anuales y latifoliadas. En el caso del maíz, se puede aplicar en el barbecho químico en mezcla con atrazina. Para lograr una mayor eficiencia de control, se debe aplicar cuando las malezas tienen un tamaño pequeño de entre 2 a 4 hojas.

➤ Presentaciones comerciales

En la tabla 6 se resumen las comercializadas en la Argentina y su correspondiente clasificación toxicológica emitida por el SENASA

Tabla 6: Presentaciones comerciales de paraquat en la Argentina

NOMBRE COMERCIAL	EMPRESA	FORMULACIÓN	CONCENTRACIÓN (%)	CLASE TOXICOLÓGICA
PARAQUAT	NUFARM	SL	20%	III
PARAQUAT HD	YPF	SL	20%	III
CERRILLO (paraquat + diuron)	SYNGENTA	SC	20%	II
GRAMOXONE SUPER	SYNGENTA	SL	20%	II

SL- concentrado soluble, SC- suspensión concentrada

CLASE TOXICOLÓGICA II- moderadamente peligroso

CLASE TOXICOLÓGICA III- ligeramente peligroso

3.6.3 2,4-D

Como se mencionó anteriormente es un herbicida selectivo, post emergente y sistémico, que se utiliza para el control de *malezas latifoliadas* en diversos cultivos como maíz, sorgo y caña de azúcar. Actualmente en la Argentina, en las presentaciones comerciales se encuentran las *sales (amónicas, sódicas o colina)* y el *éster etilhexílico*, dado que el SENASA mediante Resolución 466/2019 prohibió la importación, elaboración, fraccionamiento, comercialización y uso de las presentaciones comerciales de *ésteres butílicos e isobutílicos* por considerarlos peligrosos debido a su alta volatilidad.

➤ Presentaciones comerciales

En la tabla 7 se resumen las prestaciones comercializadas en la Argentina con su correspondiente clasificación toxicológica.

Tabla 7: Presentaciones comerciales del 2,4-D en la Argentina

NOMBRE COMERCIAL	EMPRESA	FORMULACIÓN	CONCENTRACIÓN (%)	CLASE TOXICOLÓGICA
KRYNN DUO	ATANOR	CS	60%	II
HERBIFEN ADVANCE	ATANOR	EC	64,3%	II
ENLIST COLEX D	CORTEVA	CS	45,6%	II
DEDALO ELITE	RED SURCOS	ME	30%	II
Beker NT	SYNGENTA	ME	30%	II
WEIZEN NT	AGM	ME	30%	II

CS- concentrado soluble, EC- concentrado emulsionable, ME- micro emulsión

CLASE TOXICOLÓGICA II- moderadamente peligroso.

En el caso de la micro emulsión, al permitir la aplicación del principio activo directamente en su forma ácida constituye una opción superadora respecto de las

formulaciones en formas de sal de amonio y éster, dado que estas últimas luego de ser aplicadas deben pasar por el proceso de transformación hacia su forma ácida.

4. DESARROLLO

4.1 Contaminación ambiental y nuevas tecnologías en la formulación de herbicidas

4.1.1 Formulaciones de liberación controlada

En base a todo lo expuesto anteriormente, resulta evidente lo controversial del uso de herbicidas, debido a que su toxicidad implica un riesgo para la salud humana y animal, además del potencial perjuicio que pueden causar al medio ambiente. La magnitud del impacto ambiental negativo de los herbicidas dependerá de los procesos de retención, transporte y degradación, así como también de las características del principio activo considerado.

La formulación del herbicida influye significativamente en los procesos mencionados en el párrafo anterior. En general, en las formulaciones convencionales, como se mencionó anteriormente, por la forma de aplicación el principio activo sufre fotólisis, se hidroliza o sufre degradación por microorganismos y, por lo tanto, la proporción de utilización efectiva es solo del 10 al 30 % del total aplicado (Xiang *et al.*, 2018). A ello se suma que, al momento de la aplicación las concentraciones iniciales del herbicida son muy elevadas, pudiendo incluso llegar a superar el nivel de concentración tóxica y rápidamente disminuir a niveles por debajo de la concentración efectiva (fig. 21).

La suma de estos factores genera la necesidad de aumentar la cantidad de herbicida aplicado o la cantidad de dosis, lo cual conlleva a la generación de una serie de consecuencias adversas entre las cuales se encuentran: aumento de la cantidad de

principio activo al que están expuestos humanos y animales, mayor riesgo de contaminación ambiental, aumento de la posibilidad de que las especies a controlar generen resistencia, mayor riesgo de fitotoxicidad sobre cultivos sensibles y un aumento de costos de producción (Bahadir y Pfister, 1990).

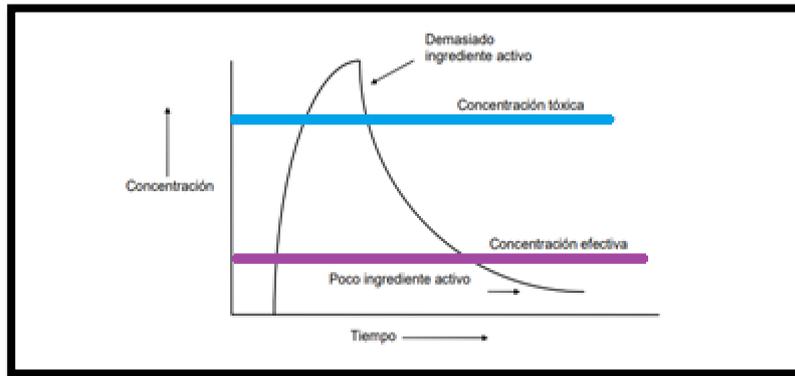


Figura 21. Dinámica de la concentración en las formulaciones convencionales

En este contexto, una de las alternativas para enfrentar esta problemática se basa en la utilización de formulaciones de liberación controlada del principio activo. El desarrollo de este tipo de formulaciones tiene como principal objetivo mantener el umbral de concentración del principio activo durante un mayor período de tiempo (fig. 22), protegiéndolo del medio ambiente y, por lo tanto, disminuyendo la velocidad de degradación, buscando, además, la liberación del mismo a una velocidad adecuada.

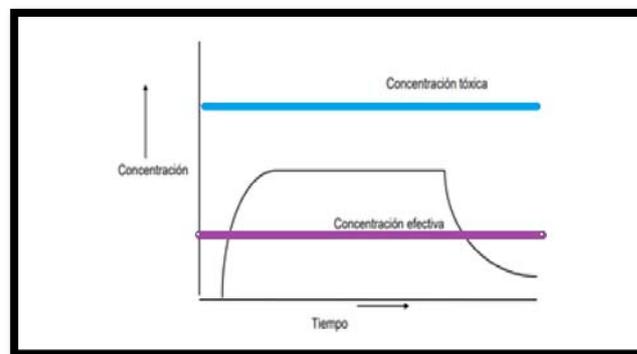


Figura 22. Dinámica de la concentración en las formulaciones de liberación controlada

Al ir liberándose gradualmente el herbicida, su tiempo de exposición al medio ambiente disminuye, disminuyendo por lo tanto su degradación. Por este motivo, no es necesario agregar sobredosis del agroquímico, por lo que disminuyen todos los efectos adversos negativos que se describieron anteriormente, así como también la proporción de lixiviación (Schreiber *et al.*, 1993, Stork, P. 1998) (fig. 23).

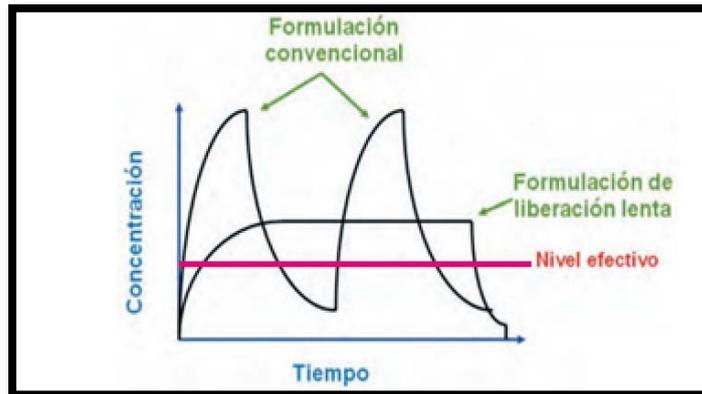


Figura 23. Comportamiento de una formulación de liberación controlada vs una convencional. Adaptado de Sopeña *et al.*, 2009

4.1.2 Encapsulamiento de herbicidas – Materiales utilizados

Las formulaciones de liberación controlada se basan en el encapsulamiento o la adsorción del principio activo (fig. 24) (Khandelwal *et al.*, 2016).

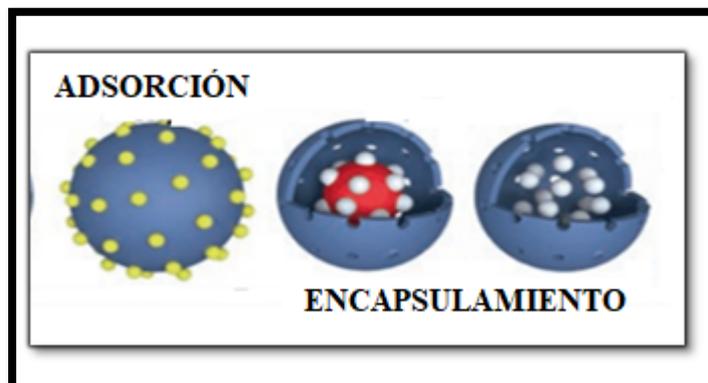


Figura 24. Representación gráfica de la adsorción y encapsulamiento del principio activo. Fuente: Yue *et al.*, 2019

El encapsulamiento consiste en el recubrimiento del principio activo, utilizando como cubierta diferentes materiales, dentro de los cuales se incluyen materiales poliméricos, inorgánicos porosos y nano arcillas, entre otros, siendo los materiales poliméricos los más populares. Los polímeros son macromoléculas formadas por cientos o miles de unidades básicas llamadas monómeros y pueden ser de origen natural, como en el caso del quitosano, el alginato y la pectina; o sintéticos, como es el caso de la policaprolactona (PCL) y los polihidroxialcanoatos, como por ejemplo el polihidroxibutilvalerato (PHBV).

El quitosano, es un biopolímero que se obtiene de la quitina, un polisacárido estructural que forma parte del exoesqueleto de los crustáceos. Con respecto a su composición, es un homopolisacárido constituido por unidades de 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranososa (D-glucosamina) enlazadas por uniones β -(1 \rightarrow 4) (fig. 25). Los quitosanos se obtienen por desacetilación total o parcial de la quitina, que es, luego de la celulosa, el polisacárido más abundante de la Tierra.

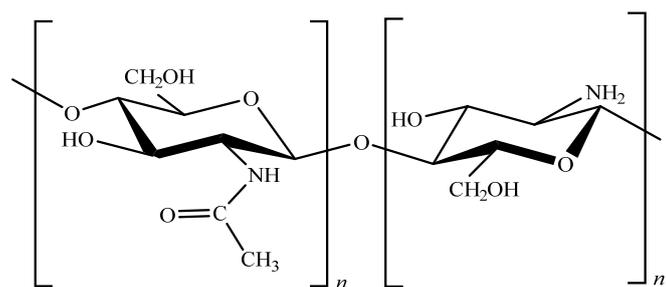


Figura 25. Estructura del quitosano

Los alginatos son copolímeros naturales de los ácidos α -L-gulurónico y β -D-manurónico, provenientes de algas pardas marinas, como *Laminaria hyperborean*, *Ascophyllum nodosum* y *Macrocystis pirifera* (fig. 26).

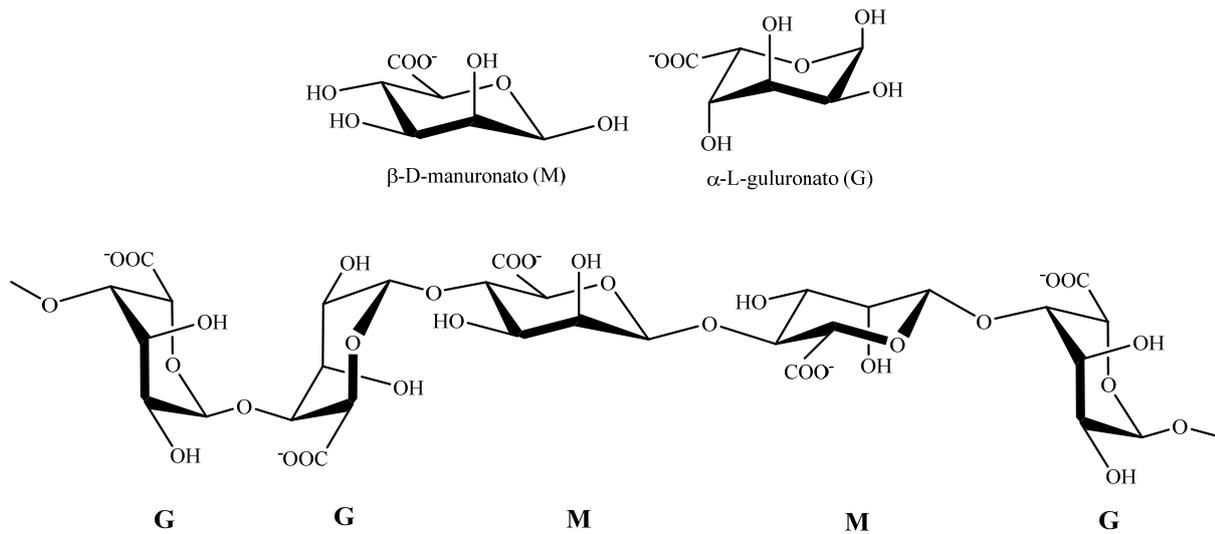


Figura 26. Estructura promedio del alginato

Con respecto a las pectinas, son un grupo de heteropolisacáridos compuestos mayoritariamente por unidades de ácido D-galacturónico unidas por enlaces α -(1 \rightarrow 4) (fig. 27).

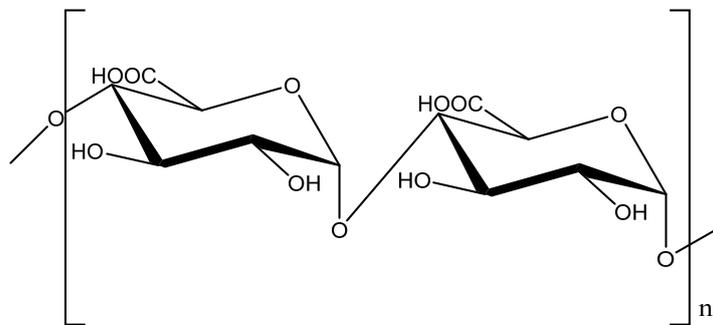


Figura 27. Estructura de las pectinas

La policaprolactona (PCL) es un poliéster alifático biodegradable, que se obtiene a partir de la polimerización de la caprolactona (fig. 28).

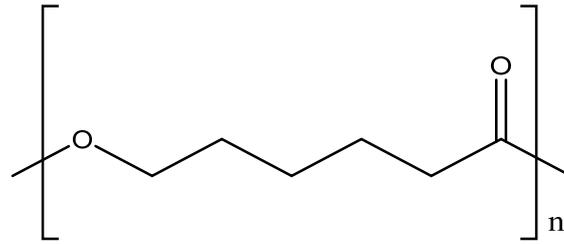


Figura 28. Estructura de la policaprolactona

Los poli hidroxialcanoatos (PHA) han sido considerados en los últimos años como una alternativa para el reemplazo de los polímeros de origen petroquímico por ser sintetizados por microorganismos y presentar características físicas similares a las de los plásticos derivados del petróleo (Delgado y Cordoba, 2015). Los PHA, son polímeros de ácidos hidroxialcanoicos que algunos microorganismos acumulan intracelularmente como material de reserva, para utilizarlos como fuente de carbono y energía antes condiciones de estrés derivadas de una deficiencia nutricional o de un exceso de la fuente de carbono.

Si bien se ha detectado la presencia de PHA en diferentes especies bacterianas, en algunas de ellas el porcentaje de acumulación es muy bajo, con lo cual no resultan aptas para producir el polímero a nivel industrial. A nivel mundial, *R. eutropha* ha sido la bacteria más estudiada, debido principalmente a la capacidad de acumular grandes cantidades de PHA y especialmente del tipo poli-β-hidroxibutirato (PHB) en porcentajes cercanos al 80% de su peso seco (Priyadarshi *et al.*, 2014). La producción del PHB puede llevarse adelante en un medio simple a partir de fuentes de carbono tales como la glucosa y la fructosa, y como así también de residuos de la industria oleica.

Si bien el PHB podría utilizarse con éxito en diferentes áreas (agrícola, industrial y biomédica), su aplicación se ve desfavorecida debido principalmente a que presenta una elevada fragilidad (Rivera Briso y Aroca, 2018). Una de las estrategias utilizadas para mejorar las propiedades del PHB, consiste en la preparación de copolímeros cuyas propiedades sean extremadamente diferentes, dentro de los cuales el poli (3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato) (PHBV) es el que ha presentado mejores propiedades. En resumen, el PHBV es un poliéster lineal, copolímero de los ácidos 3-hidroxi-butírico y 3-hidroxi-valérico (fig. 29).

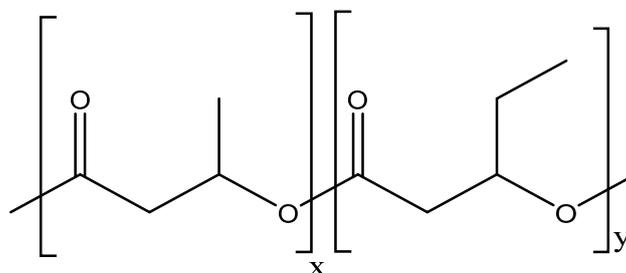


Figura 29. Estructura del PHBV

Uno de los parámetros más importantes a considerar al momento de seleccionar un polímero para ser usado como encapsulante de herbicidas para su posterior liberación controlada es el coeficiente de difusión, dado que la liberación del principio activo se producirá como consecuencia de la difusión de este último a través de la matriz polimérica. Por lo general, cuanto menores son las fuerzas intermoleculares que se establecen entre el polímero y el herbicida, mayor es el coeficiente de difusión. Se sabe también que, cuanto mayores son el grado de cristalinidad y/o de entrecruzamiento del polímero, peor es la difusión.

La cuantificación de la difusión de una sustancia a través de una membrana permeable se puede expresar mediante la Primera Ley de Fick (ecuación 3), que

establece que el flujo difusivo que atraviesa una superficie es directamente proporcional al gradiente de concentración e inversamente proporcional al espesor de la membrana.

$$J = D \cdot \frac{\Delta C}{\delta} \quad (3)$$

Donde J ($\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$) es el flujo difusivo, D ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) es el coeficiente de difusión, el cual es una medida de la movilidad de las moléculas individuales de la sustancia, ΔC es la diferencia de concentración entre ambos lados de la membrana y δ es el espesor de la membrana.

Dentro de los modelos matemáticos que se han propuesto para analizar y describir el mecanismo mediante el cual ocurre el proceso de liberación, uno de los más utilizados es el propuesto por Korsmeyer y Peppas, 1983, el cual se basa en el coeficiente de difusión del soluto y permite determinar si tiene lugar o no un proceso de difusión que obedezca a la Ley de Fick, siguiendo la relación dada por la siguiente ecuación (4):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k t^n \quad (4)$$

Donde M_t es la cantidad de principio activo liberado en un tiempo t , M_∞ es la fracción del principio activo liberado después de un tiempo infinito, mientras que k es la constante cinética que involucra el análisis de las características estructurales y geométricas del dispositivo transportador; y n es el exponente difusional que depende del mecanismo de liberación del activo y de la forma del dispositivo. Los valores de n correspondientes para geometrías cilíndricas y esféricas se presentan a continuación en la tabla 8. Los valores de n y k se relacionan de manera inversamente proporcional, por lo cual un valor muy elevado de k podría indicar un efecto de liberación sin control inicial.

Tabla 8. Coeficiente n para sistemas poliméricos de liberación controlada de diferente geometría. Adaptado de Sandoval et al., 2008

Exponente n		
Cilindro	Esfera	Mecanismo de liberación
0,45	0,43	Difusión "Fickiana"
$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Difusión anómala
0,89	0,85	Caso II

En relación a los valores de n expuestos en la tabla anterior, Korsmeyer y Peppas proponen que los valores cercanos a 0,43 indican que la liberación está controlada por el proceso de difusión, denominada liberación Fickiana, para denotar que sigue la Ley de Fick; mientras que los valores superiores a 0,85 indicarían que los mecanismos de liberación están gobernados por los procesos de relajación de las cadenas del polímero, los cuales se definen como Caso II. Los valores intermedios comprendidos entre 0,43 y 0,85 indicarían un comportamiento anómalo también llamado liberación no Fickiana, en la cual se combinarían la difusión y la relajación de las cadenas poliméricas (Sandoval et al., 2008).

La solubilidad en agua es otra propiedad que debe ser evaluada, dado que los polímeros solubles en agua, como por ejemplo los alginatos, sólo pueden ser usados cuando se requiere un control de corto plazo y, en estos casos, la liberación es controlada por la velocidad de disolución del polímero (Ishizawa y Nakamatsu, 2002).

Además de todos los factores mencionados anteriormente, para ser seleccionados para esta aplicación, los polímeros deben ser biodegradables y ambientalmente amigables.

4.1.3 Adsorción de herbicidas – Materiales utilizados

En el caso de la adsorción, dentro de los materiales empleados se destacan las arcillas, aunque también se ha evaluado la utilización de otro tipo de materiales como la hidroxiapatita (Sharma, *et al.*, 2019) y las cáscaras de arroz (Evy *et al.*, 2015).

Las arcillas engloban a un grupo de minerales que, en su mayor parte, son filosilicatos, dentro de los cuales se encuentra la montmorillonita. Los minerales de arcilla como la montmorillonita, son aluminosilicatos hidratados, es decir que mayoritariamente se encuentran formados por átomos de silicio (Si), oxígeno (O), aluminio (Al) y grupos hidroxilo (^{-}OH). Entre las arcillas más comúnmente empleadas para liberación de agroquímicos se encuentran la bentonita, la sepiolita y la caolinita, debido a que presentan una serie de ventajas entre las que se destacan la estabilidad, alta capacidad adsorptiva, la baja o nula toxicidad, el bajo costo (Shirvani *et al.*, 2014), y la abundancia natural, dado que se encuentran presentes en la mayor parte de los suelos (Hermosin *et al.*, 2001).

Sin embargo, las arcillas mencionadas anteriormente no resultan efectivas para la adsorción de compuestos orgánicos aniónicos como, por ejemplo, el herbicida 2,4-D, debido a que, como se mencionó anteriormente, su superficie presenta cargas negativas, lo cual genera la repulsión de este tipo de compuestos por sus características aniónicas. Ante esta situación, una de las alternativas consiste en el pretratamiento de la superficie de las arcillas con surfactantes catiónicos. Los surfactantes más comúnmente utilizados son sales de amonio cuaternario, como por ejemplo el hexadeciltrimetilamonio (HDTMA), el benziltrimetilamonio (BTA), bencildeciltrimetilamonio (BDTA), siendo el HDTMA uno de los más utilizados (Guegan, R., 2019). La adsorción de los cationes orgánicos sobre la superficie de las arcillas

produce una modificación en su superficie, que pasa de hidrofílica a hidrofóbica. Además, la carga neta cambia de negativa a positiva y, como resultado de dicho proceso, se obtienen las “organoarcillas”, materiales híbridos que son el resultado de la asociación entre los minerales de las arcillas y los compuestos orgánicos como los surfactantes mencionados en el párrafo anterior (Guegan, R. 2019). Las organoarcillas, cargadas positivamente pueden adsorber eficientemente aniones como el 2,4-D. Por ejemplo, Hermosin *et al.*, (2006), utilizaron una organo-montmorillonita para la liberación controlada del 2,4-D, que permitió disminuir las pérdidas por lixiviación y biodegradación de este herbicida, mientras que su actividad se mantuvo en un nivel similar al de la formulación convencional.

Las arcillas, además, pueden utilizarse asociadas a otros materiales. Li *et al.*, (2012), reportaron la utilización de bentonita asociada al quitosano para la liberación controlada de la atrazina. Los autores, encontraron que el período para la liberación del 50% del herbicida desde las arcillas en las que se encontraba adsorbido, se extendió hasta 572 horas y redujo el nivel de infiltración en el suelo.

Hay diversos factores que influyen en la velocidad y la extensión de la liberación del principio activo desde el material en el que se encuentra adsorbido, como por ejemplo la relación arcilla-herbicida y el procedimiento empleado para la preparación de la formulación (Celis *et al.*, 2007).

4.1.4 Materiales y Métodos utilizados para la preparación y estudio de formulaciones de liberación controlada

4.1.4.1 Estudios relacionados con el proceso de adsorción

- Metodología de superficie de respuesta (RSM)

La metodología de superficie de respuesta (RSM), es una colección de técnicas matemáticas y estadísticas que se utilizan para la construcción de modelos empíricos. El objetivo es optimizar una respuesta (variable de salida) que está influenciada por varias variables independientes (variables de entrada). Para ello, se llevan a cabo una serie de pruebas en las cuales se realizan cambios en las variables de entrada para identificar las razones de los cambios en la respuesta de salida.

Por ejemplo, Sharma et al (2019), empleó el modelo de superficie de respuesta para un estudio de adsorción de atrazina (ATZ) sobre hidroxiapatita, analizando tres variables: concentración del herbicida, concentración de las nanopartículas del adsorbente y pH. Su estudio permitió generar una ecuación que relaciona el % de adsorción del herbicida estudiado sobre la hidroxiapatita con las tres variables investigadas (ecuación 5)

$$\% \text{ ads ATZ} = 68,46 - 6,26 \times [\text{atrazina}] + 20,29 \times [\text{nanopartículas}] + 0,10 \times \text{pH} \quad (5)$$

- Isotermas de adsorción-desorción

Para la evaluación de la eficiencia de la adsorción, se construyen isotermas de adsorción, que representan la cantidad de herbicida adsorbido por unidad de peso del adsorbente, en función de su concentración en la disolución de equilibrio, a una temperatura constante y un tiempo definido. Experimentalmente las curvas de adsorción se obtienen poniendo en contacto una cantidad fija del adsorbente con

disoluciones de diferente concentración del herbicida en estudio (fig. 30) con agitación constante.

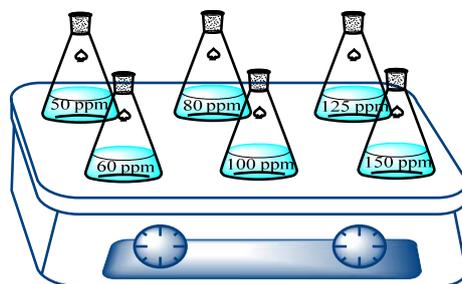


Figura 30. Equipamiento utilizado

Finalizado el tiempo predefinido (en general 24 h), se toma una alícuota del sobrenadante y se mide su concentración. La masa adsorbida del herbicida se determina por diferencia entre las concentración final e inicial (ecuación 6).

$$\% \text{ Herbicida adsorbido} = \left[\frac{C_i - C_f}{C_i} \right] \times 100 \quad (6)$$

4.1.4.2 Eficiencia del encapsulamiento

La eficiencia del encapsulamiento se determina midiendo la concentración del principio activo en la solución antes y después del proceso de encapsulamiento. El mayor desafío consiste en la separación de las cápsulas de la solución sin que se rompan durante el proceso. En general, una de las técnicas más empleadas para para lograr eficientemente esta separación es la ultrafiltración, que permite la separación de sólidos, mediante la utilización de filtros constituidos por una membrana semipermeable con poros de tamaño definido, los cuales, en el caso de los estudios de encapsulamiento de herbicidas pueden ser de 30 kDa de diámetro. Para llevar adelante el ensayo en el laboratorio, se emplean tubos para centrifuga modificados, que contienen en su interior un recipiente con forma de cono en cuyas paredes se encuentra la membrana porosa (fig. 31)



Figura 31. Tubos de ultracentrifugación

La suspensión de las partículas que contienen el herbicida se coloca en los tubos de ultrafiltración antes mencionados y estos son llevados a la centrifugadora. Posteriormente mediante HPLC se determina la concentración del herbicida en el sobrenadante.

4.1.4.3 Estudios de caracterización

- Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés, transmisión electron microscopy), utiliza alto voltaje para producir y enfocar un haz de electrones acelerados a alto vacío sobre una superficie muy delgada de la muestra a analizar (fig. 32). Al impactar los electrones en una de las caras de una muestra de tejido ultradelgada forman una imagen al emerger por la cara contraria. Esta técnica se utiliza para estudiar la estructura y morfología de muestras sólidas, permitiendo, por ejemplo, estudiar los cambios morfológicos ocurridos en la superficie de los adsorbentes luego de la adsorción del herbicida (Sharma *et al.*, 2019).

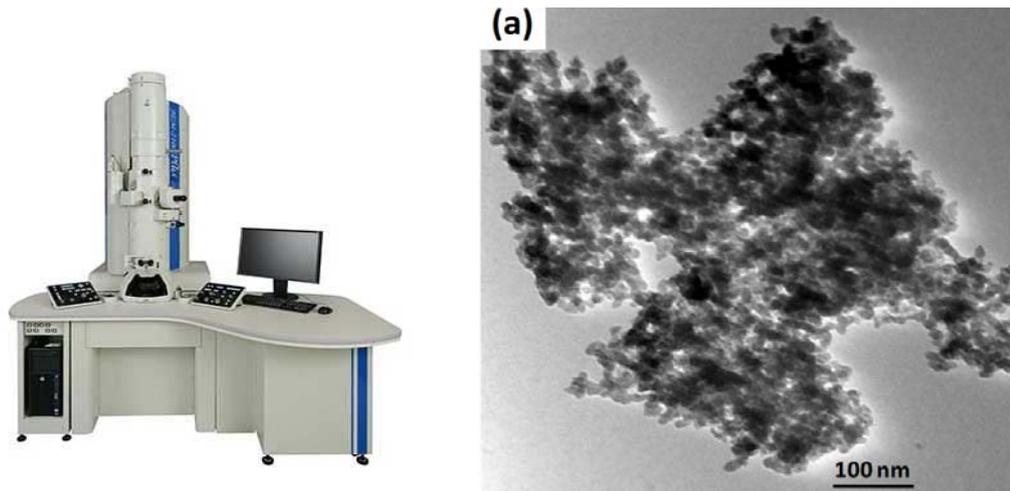


Figura 32. Microscopio electrónico de transmisión (izq.). Imagen obtenida por TEM de las partículas de hidroxiapatita luego de la adsorción de la atrazina (derecha). Fuente: Sharma et al., 2019.

- Microscopía de barrido electrónico (SEM)

La microscopía electrónica de barrido (SEM por sus siglas en inglés, scanning electron microscope) permite analizar la superficie de muestras sólidas, brindando información morfológica, topográfica, cristalográfica y de composición química. Las imágenes se generan por interacción de un haz de electrones con la muestra, en condiciones de vacío, con una resolución en la escala del nanómetro (fig. 33).

En la figura 34 se puede observar el cambio de aspecto de la superficie de las cáscaras de arroz luego de la adsorción del herbicida 2,4-D (Evy et al., 2016).

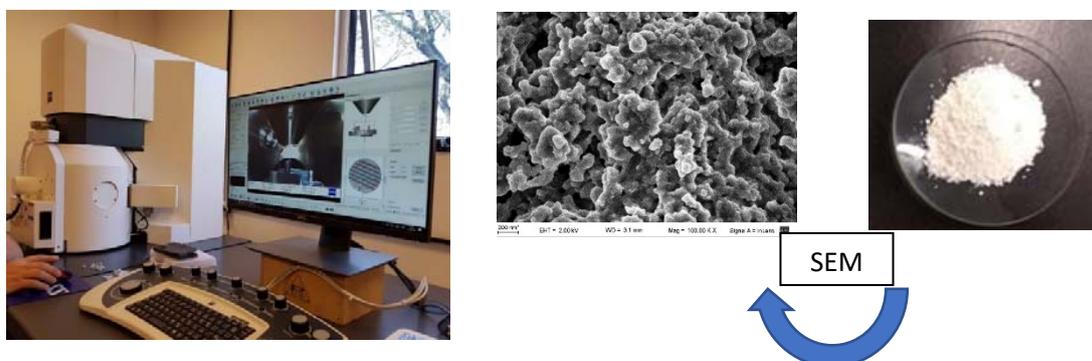


Figura 33. Microscopio de barrido electrónico (izq.). Imagen obtenida como resultado del barrido electrónico (derecha)

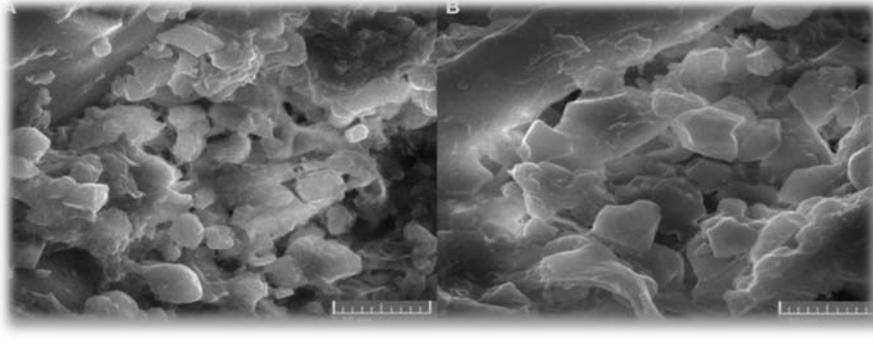


Figura 34. Escaneo electrónico microscópico de las nanopartículas adsorbentes de cáscaras de arroz. A) antes de la adsorción del herbicida B) después de la adsorción del herbicida
Fuente: Evy et al., 2016

- Microscopía de fuerza atómica (AFM)

Esta técnica permite registrar la topografía superficial de una muestra a escala nanométrica. El microscopio de fuerza atómica es un instrumento mecano-óptico, el cual consta de una sonda con una punta afilada de forma piramidal, la cual se encuentra situada en el extremo de una micro palanca flexible. Durante el procedimiento, mientras la punta recorre la superficie de la muestra, se hace incidir un láser en la micro palanca, de forma tal que cada vez que la punta sube o baja debido a la interacción con la superficie analizada, la micro palanca refleja la desviación del láser hacia un detector.

El detector consiste en un fotodiodo, el cual está dividido en cuatro segmentos y las diferencias de voltaje de los segmentos superiores respecto a los inferiores permiten determinar con precisión los cambios en la inclinación o la amplitud de oscilación de la punta. La computadora conectada al detector procesa la información y genera la imagen.

A partir de las imágenes topográficas se puede obtener información de la morfología de la muestra en 3D, como también los valores de algunos parámetros superficiales como el potencial Z, la rugosidad, el tamaño y los límites del grano. En la

figura 35 se observa la imagen resultante en 3D correspondiente a la superficie de las nano partículas sin el contenido de herbicida y conteniendo el paraquat.

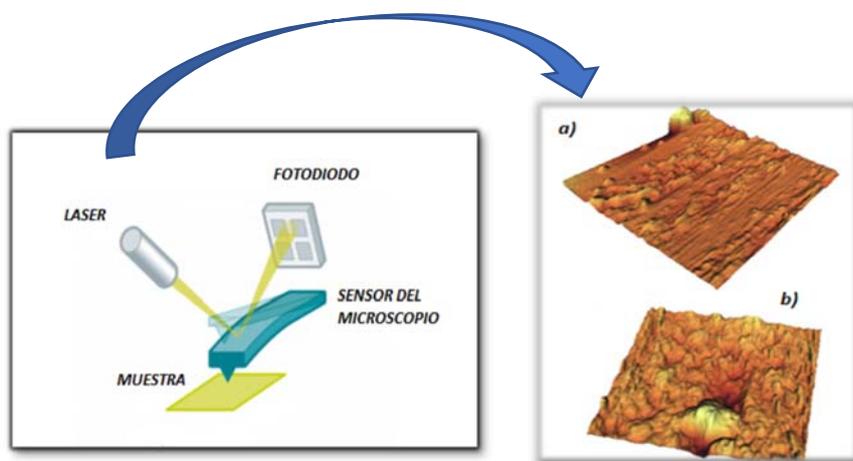


Figura 35. Microscopía de Fuerza atómica de las nano partículas. a) sin contenido de paraquat. b) con contenido de paraquat. Fuente: Rashidipour et al., 2019

- Espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FT-IR)

En los estudios por espectroscopía infrarroja la muestra (que puede ser sólida, líquida o incluso gaseosa), es irradiada con energía de la zona del infrarrojo del espectro electromagnético. Este estudio se basa en el hecho que las frecuencias de vibración de la mayoría de los enlaces covalentes, ocurre en el rango de energía de la zona infrarroja. Por lo tanto, cuando la molécula es irradiada, por cada movimiento vibracional presente en la molécula habrá una banda de absorción asociada, lo que transforma el espectro de absorción en una especie de “huella dactilar de la molécula” que permite identificarla, al compararla con estándares almacenados en bibliotecas moleculares.

Además, los espectros IR permiten identificar los grupos funcionales presentes en las moléculas orgánicas acorde a la presencia o ausencia de las bandas de absorción asociadas a los movimientos vibracionales de los enlaces presentes en los distintos grupos funcionales.

En la figura 36 se muestra la imagen de un espectro IR en el que se observa la presencia de grupos hidroxilos en la muestra analizada.

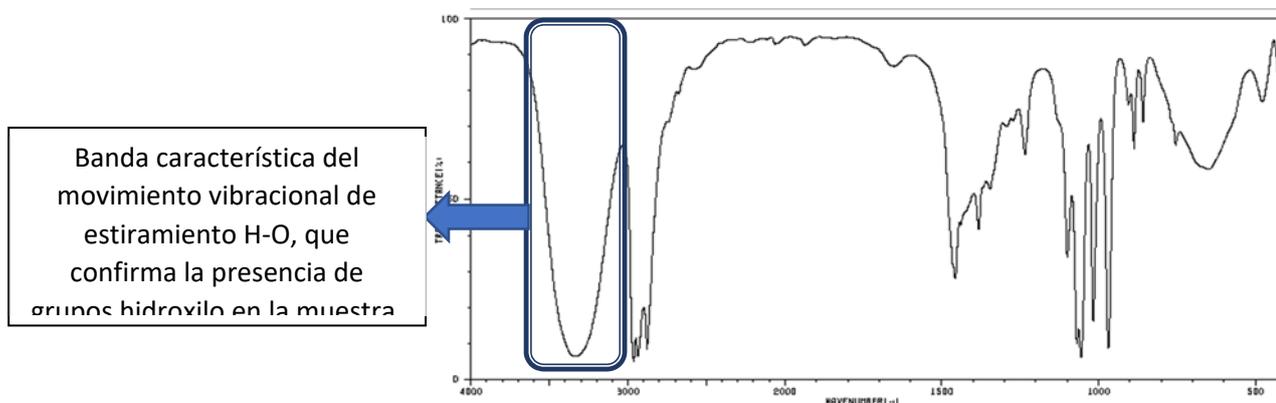


Figura 36. Imagen del Espectro IR y movimiento vibracional de estiramiento de la banda. Fuente: Spectral Database for Organic Compounds (SDBS). <https://sdb.sdb.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, acceso: 30-09-2020)

4.1.4.4 Estudios de caracterización de las partículas

- *Dispersión dinámica de la luz (DLS)*

La dispersión de luz dinámica (DLS), es una técnica no invasiva que permite medir el tamaño y la distribución de tamaño de partículas, micro o nanométricas, disueltas o dispersas en un medio líquido. Mediante esta técnica se puede determinar, por ejemplo, el tamaño promedio de las cápsulas en los casos en los que se estén preparando formulaciones de liberación controlada de herbicidas mediante la estrategia de encapsulamiento del principio activo. El equipo que se utiliza para realizar esta determinación (fig. 37) permite también medir la carga superficial de las partículas estudiadas.



Figura 37. Equipo utilizado en los ensayos de DLS

4.1.4.5 Estudios de detección y cuantificación del herbicida

- Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

La cromatografía permite la separación y/o análisis de una mezcla de compuestos por medio de la distribución selectiva de los componentes de la muestra entre una fase estacionaria o fija y una fase móvil. La diferente afinidad de los componentes por la fase estacionaria causa la separación. En particular, en HPLC la fase fija puede ser sólida o líquida y se encuentra contenida dentro de una columna por la que se hace fluir la fase móvil (líquida) (fig. 38).



Figura 38. Diferentes columnas que contienen la fase fija (izq.). Vista completa del cromatógrafo (derecha)

El detector más comúnmente utilizado es el ultravioleta, pero también se pueden usar otros detectores más universales como el de índice de refracción. Acorde a la estructura de la muestra a analizar se selecciona el detector que se considera más apropiado.

En los estudios de liberación controlada de herbicidas, por HPLC es posible, por ejemplo, detectar y cuantificar el herbicida presente en el medio en el que se está analizando su liberación. También ha sido informado su uso para estudios de lixiviación (Sharma *et al.*, 2019). Se usa también para determinar en el contenido del herbicida en una solución antes o después de los estudios de encapsulamiento o adsorción.

4.1.4.6 Estudios de cinética de liberación

- Ensayos en batch

El equipo y el procedimiento son similares a los utilizados para la elaboración de las isothermas de adsorción. Para el ensayo, la muestra del herbicida adsorbido o encapsulado, se pone en contacto con el agua contenida en un recipiente cerrado, con agitación que puede ser constante o intermitente. A continuación, se procede a tomar alícuotas del sobrenadante a intervalos definidos de tiempo, que son analizadas por HPLC para determinar la concentración del herbicida en la solución acuosa.

- Ensayos sobre un embudo Büchner

Es un tipo especial de embudo que se utiliza para la filtración al vacío. El equipo consiste en un embudo Büchner, que es un embudo de porcelana, que se conecta a un kitasato y a una trampa de vacío (fig. 39).



Figura 39. Embudo Büchner (izquierda). Matraz kitasato (derecha)

Este tipo de estudio se realiza para simular el efecto de las precipitaciones en la liberación del herbicida. Para estos estudios, se coloca una muestra de suelo sobre un papel de filtro colocado sobre el embudo Büchner, y luego se rocía el suelo con la solución del herbicida. Posteriormente, en intervalos de tiempo previamente definidos la muestra se irriga con un volumen medido de agua destilada para simular el efecto de la precipitación natural. La concentración del herbicida liberado se realiza midiendo la concentración del herbicida en el filtrado por HPLC.

- Ensayos sobre Columnas de suelo

Estos ensayos, además de permitir estudiar la cinética de liberación del herbicida, permiten realizar también, estudios de lixiviación. Estos estudios son muy importantes, dado que la reducción de la lixiviación es una de las ventajas que se esperan de las formulaciones de liberación controlada.

Las columnas de suelo consisten en una estructura cilíndrica formada, en general, por tubos de un material plástico, pudiendo ser enteras o estar divididas en anillos desmontables, en este último caso los anillos se encuentran separados uno del otro por un papel de filtro.

En el ensayo, la formulación del herbicida se aplica en la parte superior de la columna y, a tiempos preestablecidos, se rocía agua en la parte superior de la columna simulando el efecto de la precipitación natural. Luego de transcurrido un plazo de tiempo preestablecido, se determina la concentración del herbicida en cada uno de los anillos por HPLC y, además, se emplea el modelo de Korsmeyer y Peppas (ecuación 4) para evaluar en mayor detalle los mecanismos involucrados en la cinética de liberación.

- **Sistema de compartimientos**

Se trata de un sistema con dos compartimientos divididos, uno aceptor y el otro donador, que se separan por una membrana porosa (fig. 40). El herbicida encapsulado o adsorbido se dispone en el compartimiento del donador, mientras que el aceptor contiene una solución acuosa que puede contener algún buffer para garantizar la disolución del herbicida. Posteriormente, desde el aceptor se toman alícuotas a intervalos de tiempo predeterminados, se determina por HPLC la concentración del herbicida y se construyen curvas de la cantidad de herbicida liberado (%) en función del tiempo.

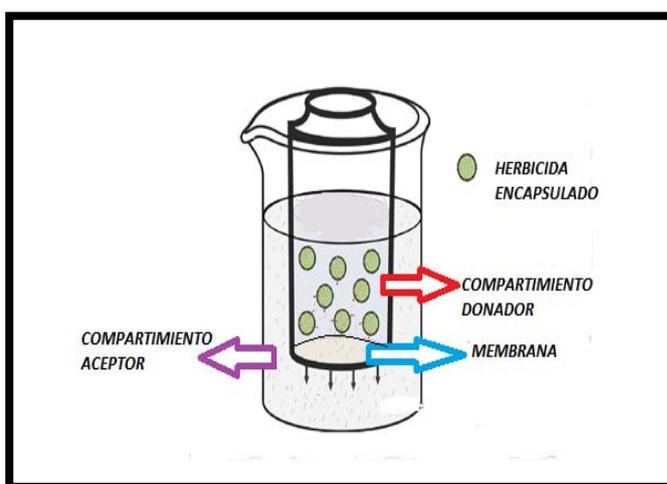


Figura 40. Sistema para evaluar la cinética de liberación. Adaptado de Grillo et al., 2014

4.1.4.7 Bioensayos para la evaluación de toxicidad

Los bioensayos de toxicidad son una de las herramientas más utilizadas en el área de la ecotoxicología. En general se llevan a cabo en el laboratorio, dado que las condiciones controladas, a diferencia de lo que ocurriría en el ambiente natural, permiten establecer la relación entre el contaminante y su efecto biológico. Se utiliza una amplia gama de organismos, entre los cuales se encuentran algunas especies de bacterias bioluminiscentes, microalgas, crustáceos y peces, entre otros. En el caso de las microalgas, las mismas presentan una serie de ventajas, entre las cuales se encuentra su rápido ciclo de división celular, que genera que las respuestas de toxicidad aguda y crónica se produzcan en cortos períodos de tiempo, facilitando su medición.

Uno de los bioensayos más comúnmente realizado con las microalgas consiste en la determinación de la inhibición del crecimiento, bajo condiciones de exposición al contaminante durante un período de 72 a 96 horas. La medición de diferentes variables, como la cantidad de clorofila sintetizada por las microalgas, la cantidad de células, etc, permite realizar la estimación del crecimiento. Por ejemplo, Sharma *et al.*, 2019, utilizaron el método de discos de papel y la microalga *Chlorella sp.* para evaluar la toxicidad de la atrazina adsorbida en hidroxapatita.

En el método del disco de papel, como se muestra en la figura 41, se coloca suelo esterilizado en una bandeja compartimentada. A continuación, los diferentes compartimientos son pulverizados con las formulaciones del herbicida a evaluar, y luego se coloca un disco de papel en la parte superior de cada uno, al que se adiciona el cultivo de las microalgas. El sistema se incuba, generalmente durante un período de 7 días, durante el cual se produce el crecimiento de las microalgas.

En la imagen inferior de la figura 41 se observan los discos de papel correspondientes a cada uno de los tratamientos evaluados por Sharma *et al.*, luego del período de incubación. En este caso, además de la inspección visual, el crecimiento se evaluó extrayendo la clorofila y cuantificándola por espectrofotometría UV. En las imágenes de la figura 41 se observa que el crecimiento de *Chlorella sp.* fue superior en el disco que había sido tratado con la formulación de liberación controlada, en comparación con el correspondiente al tratamiento con la atrazina pura. Por otra parte, en el caso de las partículas de hidroxapatita puras, el elevado crecimiento observado se atribuyó al efecto fertilizante de las mismas, dado que son una fuente rica en fosfatos.

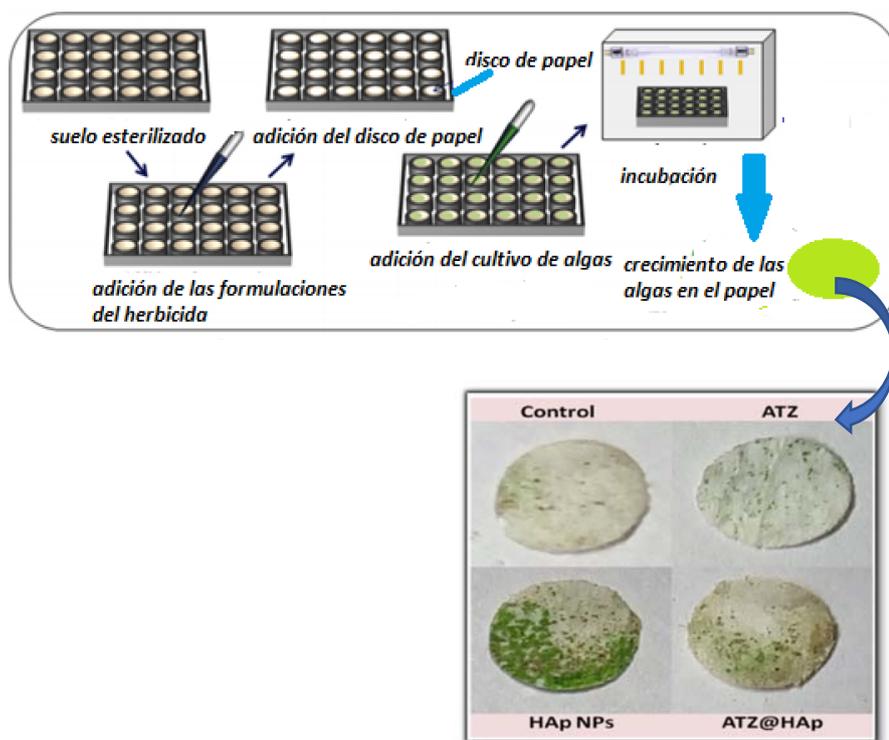


Figura 41. Método del disco de papel (arriba) y crecimiento de *Chlorella sp.* en los diferentes tratamientos (control, atrazina pura (ATZ), partículas de hidroxapatita puras (HAp NPs), formulación de liberación controlada (ATZ@HAp) (abajo). Fuente: Sharma *et al.*, 2019

Las conclusiones que surgieron de la inspección visual se confirmaron con los resultados de la cuantificación de clorofila, que se muestran en la figura 42.

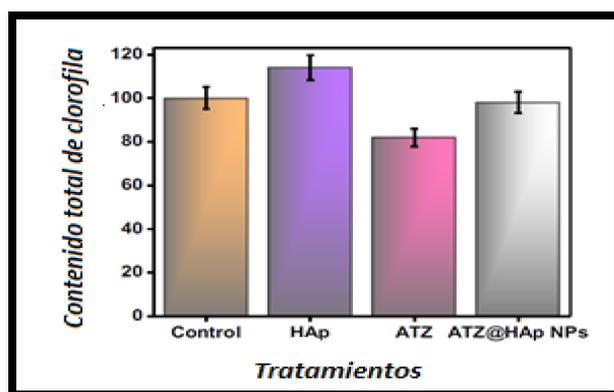


Figura 42. Contenido total de clorofila para los diferentes tratamientos. Fuente: Sharma et al., 2019

Siguiendo la misma línea observada en el crecimiento, del gráfico anterior se desprende, que el tratamiento correspondiente a las partículas de hidroxapatita puras mostró el mayor contenido de clorofila, seguido por la formulación de liberación controlada, mientras que el menor valor correspondió al tratamiento con la atrazina pura.

Otra especie ampliamente utilizada en los bioensayos de toxicidad es *Allium cepa* (cebolla). Estos bioensayos, en general, se llevan a cabo para evaluar los efectos sobre el material genético (genotoxicidad) que pueden ser clastogénicos (inducción de rupturas cromosómicas en la división celular) y aneugénicos (alteración en las estructuras de la célula) (Solarte y Pepinosa, 2013).

En general, para realizar las evaluaciones se utiliza el tejido meristemático de la raíz, dado que las alteraciones de las células de los meristemas apicales de la cebolla se observan muy claramente. Ante la presencia de sustancias tóxicas, si la división celular de los meristemas radiculares se ve afectada, se genera un retraso del proceso de mitosis y se altera, por lo tanto, el proceso de elongación de las células radiculares.

Las variables más comúnmente analizadas son las siguientes:

- El índice mitótico (número de células divididas cada 1000 células observadas), el cual es una medida del potencial proliferativo de las células.
- El índice de aberración cromosómica, que representa la cantidad de divisiones con presencia de aberraciones en función de la cantidad total.
- Porcentaje de células y estimación de la duración de las diferentes fases.

Grillo *et al.*, 2014, realizaron el ensayo para evaluar la genotoxicidad de las nanopartículas de quitosano y tripolifosfato que se usaron como agentes encapsulantes de paraquat. Los resultados obtenidos mostraron que el daño producido en el ADN fue menor cuando el herbicida se encontraba asociado a las nanopartículas, en comparación al daño que generó la utilización del herbicida puro (fig. 43).

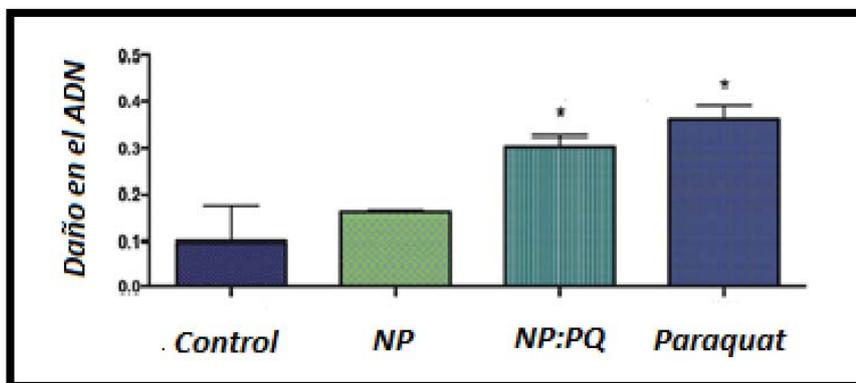


Figura 43. Resultados del nivel de daño en el ADN de las semillas de *Allium cepa* para los diferentes tratamientos. Fuente: Grillo *et al.*, 2014.

Por otra parte, Pereira *et al.*, 2014, evaluaron la genotoxicidad de las nanopartículas de PCL que contenían atrazina. Luego de haber expuesto las semillas de *Allium cepa* a los diferentes tratamientos analizaron el Índice mitótico y el Índice de aberración cromosómica. Los resultados obtenidos se encuentran representados en las figuras 44 y 45.

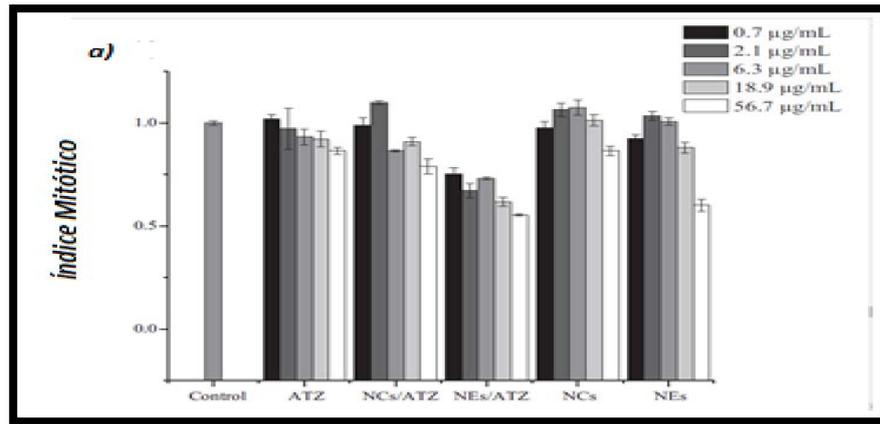


Figura 44. Evaluación del Índice mitótico en las células de *Allium cepa* para los diferentes tratamientos (control, atrazina pura (ATZ), nano capsulas con atrazina (NCs/ATZ), nano esferas con atrazina (NEs/ATZ), nano capsulas y nano esferas sin herbicida (NCs – NEs). Fuente: Pereira et al., 2014.

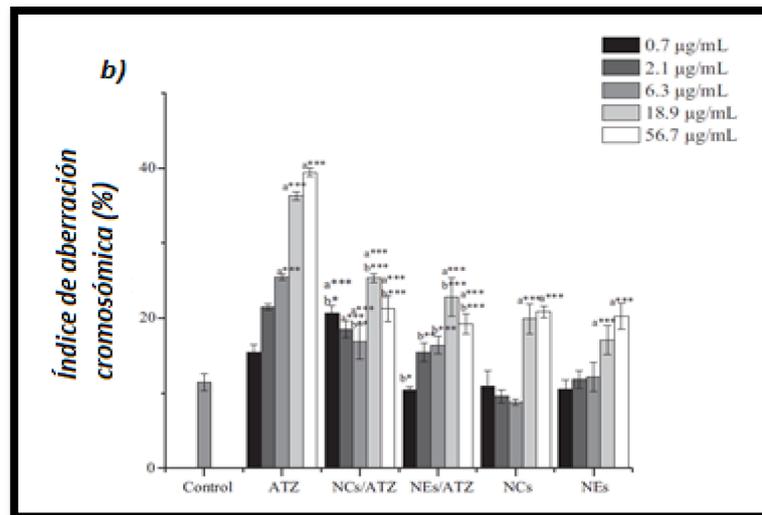


Figura 45. Evaluación del Índice de aberración cromosómica (%) en las células de *Allium cepa* para los diferentes tratamientos. Fuente: Pereira et al., 2014.

Como se puede observar en las figuras 44 y 45, el Índice mitótico fue mayor cuando la atrazina se aplicó asociada a las nano cápsulas, en comparación a los valores que se obtuvieron cuando fue aplicada en forma pura.

Con respecto a los resultados del Índice de aberración cromosómica, los mayores valores del mismo se asociaron a la aplicación de la atrazina pura, y fueron

notablemente inferiores cuando el herbicida se encontraba en el interior de las nanopartículas, lo cual cómo se explicó anteriormente podría deberse a la lenta liberación del herbicida desde el interior de las nano cápsulas.

4.1.4.8 Estudios de la actividad herbicida

En estos estudios se utilizan dos especies vegetales diferentes, una es el cultivo de interés, que en este Trabajo de Tesis es el maíz, y la otra la maleza a combatir, por ejemplo, *Bidens pilosa* y *Brassica sp.* En todos los casos se comparó la actividad herbicida de las formulaciones de liberación controlada con la del mismo principio activo en una formulación convencional. Es de destacar que los mismos ensayos realizados en condiciones de campo podrían arrojar diferentes resultados debido a la influencia de los factores ambientales y edáficos.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Adsorción y encapsulamiento de herbicidas

5.1.1 Ensayos realizados con atrazina y resultados obtenidos

A continuación, se presentan algunos de los avances que se han informado, hasta el momento, con respecto al desarrollo de formulaciones de liberación controlada de atrazina.

Como ejemplos, se pueden mencionar los estudios de Fernandez-Perez *et al.*, (2004), quienes adsorbieron la atrazina sobre bentonitas previamente activadas por tratamientos con ácido y luego encapsularon las bentonitas en gránulos de alginato; los de Sanchez-Verdejo *et al.*, (2008) quienes encapsularon el herbicida en vesículas de fosfatidilcolina (PC) y adsorbieron las vesículas sobre montmorillonita (MT); y por último

los estudios de Sharma *et al.*, (2018) que adsorbieron la atrazina sobre hidroxiapatita (HAp).

En todos los casos, para maximizar la cantidad de herbicida adsorbido, se realizaron estudios para determinar las proporciones óptimas de los distintos materiales que componían el adsorbente, así como también las condiciones del medio de reacción, como el pH. Por ejemplo, mezclando 10 mg/l de partículas de HAp con 2.500 mg/l de atrazina a pH 7, se lograron porcentajes de adsorción del herbicida cercanos al 95 %, condiciones seleccionadas mediante la metodología de superficie de respuesta (RSM). Las isotermas de adsorción fueron consistentes con un proceso de adsorción en múltiples capas que sólo es posible cuando la adsorción se debe a interacciones físicas (fuerzas intermoleculares) lo cual fue considerado positivo dado que, en los casos de adsorción química, (por ejemplo, interacciones iónicas), como consecuencia de una mayor fuerza de atracción se retrasa la liberación del herbicida.

Por otra parte, en el caso de los gránulos de alginato, Fernandez-Perez y su equipo observaron que la incorporación de las bentonitas activadas a la formulación generaba los siguientes efectos: i) un aumento en el tamaño de los gránulos de alginato, ii) un aumento en el peso de los gránulos sumado a una forma más esférica, iii) que hubiera menos agregados y iv) un aumento de la eficiencia de encapsulación, observándose valores superiores al 90, 91% considerados muy satisfactorios. En este caso, las isotermas de adsorción que se muestran en la fig. 46, permitieron concluir que el tratamiento de las bentonitas con las soluciones de ácido sulfúrico (0,5 y 2,5 moles/l), incrementaba el nivel de adsorción, observando máxima adsorción en el caso de B-0,5 (fig. 46, curva 1).

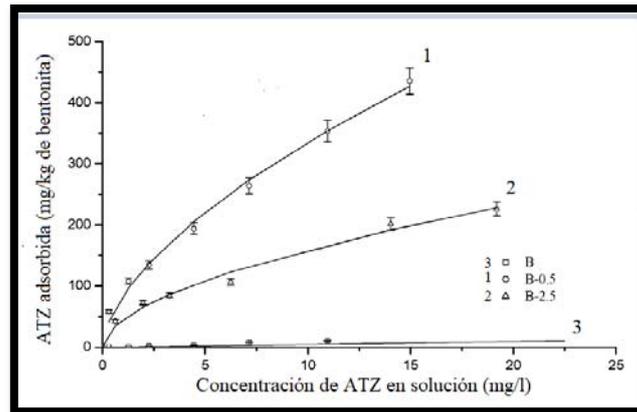


Figura 46. Isotermas de adsorción de la atrazina en las bentonitas. B. B-0,5, B-2,5. Fuente: Fernandez-Perez et al., 2004.

Los estudios realizados por Sanchez Verdejo acerca de la cinética de liberación del herbicida fueron exitosos. En el caso de las vesículas de PC adsorbidas en MT, las tres formulaciones de liberación controlada evaluadas contenían diferentes proporciones de arcilla y atrazina respectivamente: AT5/1,8 (5 gr/l de arcilla y 1,8 milimoles (mM) de atrazina), AT5/2,4 (5 gr/l - 2,4 mM de atrazina) y AT1,6/2,4 (1,6 gr/l - 2,4 mM de atrazina). Para llevar a cabo el ensayo se utilizaron embudos Büchner siguiendo la metodología explicada en el apartado 4.1.4.6 de la sección materiales y métodos. En ensayos paralelos se aplicaron distintas formulaciones del herbicida sobre suelo depositado en el embudo, y las muestras de suelo fueron irrigadas 43 veces con volúmenes constantes de agua destilada, emulando la precipitación. A continuación, se procedió a medir la concentración del herbicida en el agua luego de cada irrigación y se graficó la concentración del herbicida en el agua irrigada vs el número de irrigación (fig. 47). En el caso de la formulación comercial, al cabo de ocho irrigaciones se detectó un acumulado del herbicida correspondiente al 79,3 % del que había sido depositado en el suelo irrigado, mientras que, en los casos de las formulaciones de liberación controlada,

luego de la misma cantidad de irrigaciones el porcentaje de liberación acumulado no superó el 30 %.

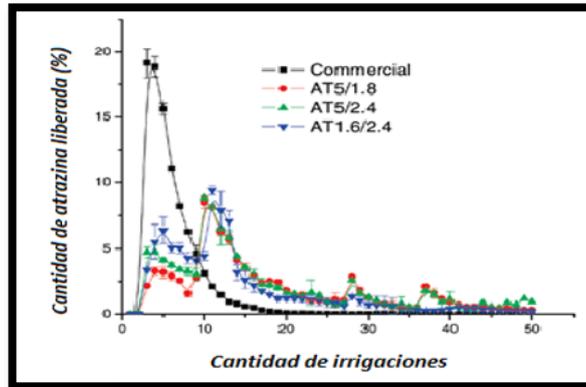


Figura 47. Evaluación de la cinética de liberación de la atrazina para las diferentes formulaciones. Comercial, AT5/1,8, AT5/2,4, AT1,6/2,4. Fuente: Sanchez Verdejo et al., 2008.

Por otra parte, en la figura 48 se muestran los resultados obtenidos al evaluar la solubilidad en agua de la formulación comercial de la atrazina (A), y la cinética de liberación de las formulaciones de liberación controlada a partir de la incorporación del herbicida en los gránulos de alginato (A_L). Como se puede observar en la figura, en el caso de la formulación comercial, el 89,78% del total aplicado de atrazina se detectó en el agua al cabo de seis días (fig. 48, curva 1), mientras que un porcentaje similar (93,43%) de la formulación $AA_LB-0,5$ (fig. 48, curva 3), se liberó luego de transcurrido un plazo de 108 días.

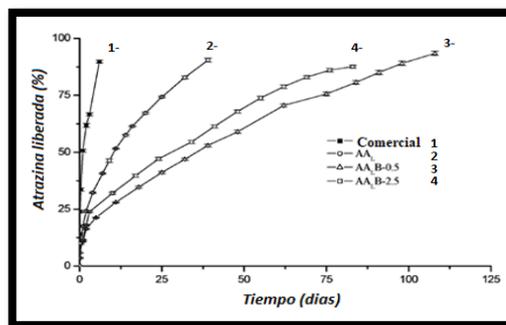


Figura 48. Evaluación de la cinética de liberación en agua de las diferentes formulaciones. Comercial, AA_L , $AA_LB-0,5$, $AA_LB-2,5$. Fuente: Fernandez-Perez et al., 2004.

En resumen, los resultados obtenidos permiten concluir que los materiales evaluados constituyen alternativas viables a los fines de incrementar la capacidad de adsorción del material y lograr la liberación controlada del herbicida.

Se realizaron, también, estudios de lixiviación, en columnas de suelo siguiendo la metodología descrita anteriormente en el apartado 4.1.4.6 de la sección materiales y métodos, de las diferentes formulaciones.

Los resultados obtenidos por el grupo de investigación de Sanchez-Verdejo mostraron, en el caso de la formulación comercial de la atrazina, una mayor lixiviación, con respecto a las formulaciones de liberación controlada. Como se puede observar en la figura 49a, el 75% de la atrazina aplicada mediante la formulación de liberación controlada se retuvo en los primeros 4 cm de profundidad del suelo, mientras que dicho porcentaje descendió a un 53% en el caso de la formulación comercial. La misma tendencia se mantuvo al analizar los segmentos más profundos, dado que en el último segmento (12-16 cm) sólo se detectó la presencia de la formulación comercial del herbicida (fig. 49a).

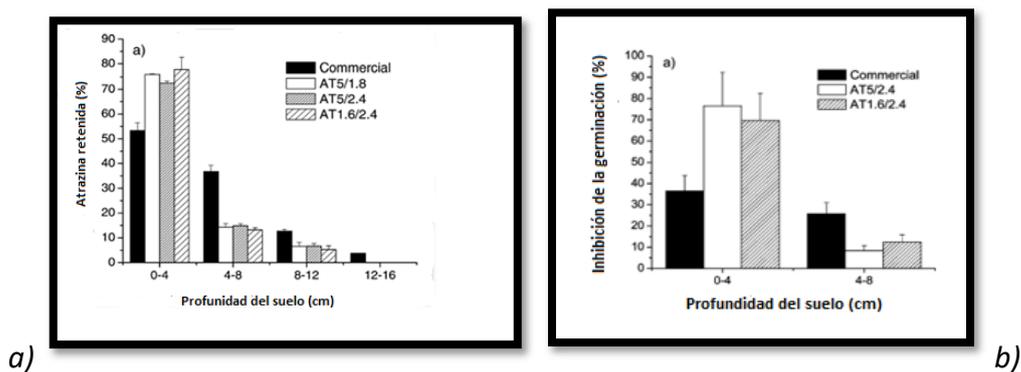


Figura 49. a) Perfil de lixiviación de la atrazina en ensayos de columnas de suelo. b) Evaluación de la actividad herbicida sobre *Setaria viridis*. Fuente: Sanchez Verdejo et al., 2008.

Por otra parte, la menor lixiviación de las formulaciones de liberación controlada también se vio reflejada indirectamente en la actividad herbicida, dado que el mayor

porcentaje de inhibición de la germinación de *Setaria viridis* (cola de zorro) se desarrolló en los primeros 4 cm del suelo (fig. 49b).

Los resultados de Sanchez-Verdejo coincidieron con los de Sharma *et al.*, (2018), quienes también observaron una mayor lixiviación en las formulaciones comerciales, respecto a las de liberación controlada, observando que la formulación comercial del herbicida lixivió hacia las capas más profundas del suelo, alcanzando el máximo nivel de concentración en la capa 7 (fig. 50).

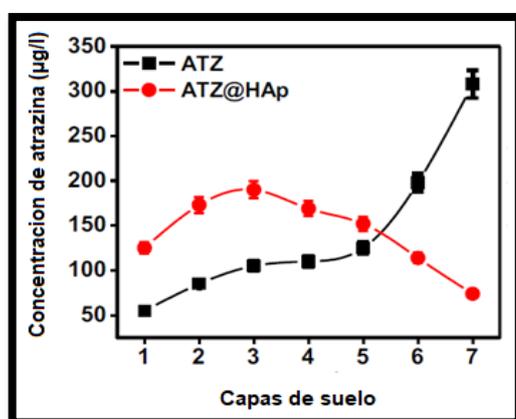


Figura 50. Evaluación de la lixiviación de las formulaciones de atrazina. ATZ (comercial), ATZ-HAp (formulación de liberación controlada). Fuente Sharma *et al.*, 2018

Los dos ejemplos mencionados ponen en evidencia uno de los beneficios de las formulaciones de liberación controlada versus las formulaciones convencionales, que es la menor lixiviación de los herbicidas con la consecuente reducción en la posibilidad de contaminación de aguas subterráneas, entre otras ventajas.

Se llevaron también a cabo ensayos para evaluar la actividad herbicida de las formulaciones de liberación controlada. Los resultados obtenidos por el equipo de Sanchez-Verdejo *et al.*, fueron comentados anteriormente junto con los correspondientes a la lixiviación, dado que en ambos casos se realizó la evaluación en

función de la profundidad, de los dos primeros anillos y del total de la columna respectivamente (fig. 49 a y b).

Asimismo, los resultados obtenidos por Sharma *et al.*, permitieron comprobar que los compuestos involucrados en las formulaciones de liberación controlada (partículas de hidroxiapatita) no tuvieron ningún efecto tóxico sobre la germinación de las semillas de maíz (fig. 51 a y b), y que, además, la formulación de liberación controlada mostró una mayor eficiencia de control sobre *Brassica sp.* dado que, en este caso, la maleza comenzó a germinar recién a los 25 días posteriores a la aplicación. mientras que cuando se aplicó la formulación convencional, la germinación comenzó a los 14 días (fig. 51c).

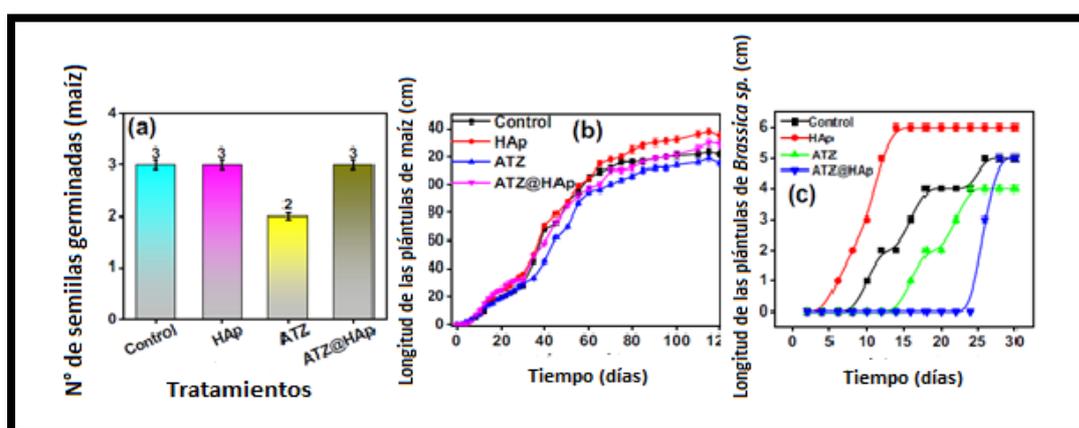


Figura 51. Evaluación de la actividad herbicida en maíz y Brassica de las diferentes formulaciones de atrazina. Control, HAp (partículas de hidroxiapatita), ATZ (formulación comercial), ATZ-HAp (formulación de liberación controlada). Sharma *et al.*, 2018.

En la figura 52 se muestra el desarrollo de las plantas de maíz a los 30 días posteriores a la aplicación de las diferentes formulaciones del herbicida. En función del desarrollo de las plantas de maíz se pudo comprobar que la aplicación de la formulación de liberación controlada no afectó la germinación, dado que, al igual que en el control, (fig. 52a), en este caso también germinaron tres de las cuatro semillas sembradas (fig.

52c), mientras que en el caso de la formulación comercial del herbicida sólo germinaron la mitad de las semillas (fig. 52b).

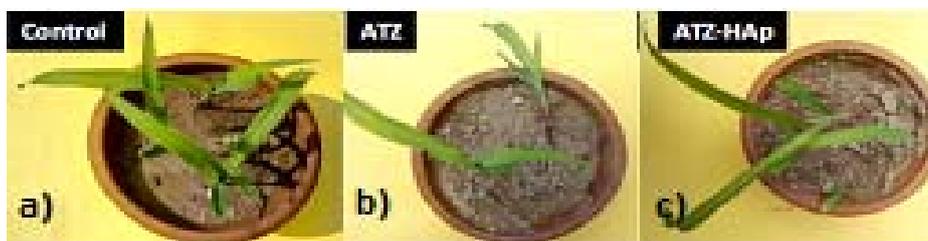


Figura 52. Estado de desarrollo de las plantas de maíz. en los diferentes tratamientos.

Fuente: Sharma et al., 2018.

En resumen, los resultados obtenidos permiten concluir que las formulaciones de liberación controlada evaluadas, constituyen una alternativa viable a los fines de lograr un adecuado nivel de control, sin afectar el cultivo y disminuyendo además el impacto ambiental y el riesgo de contaminación.

Hay antecedentes, también, de formulaciones de liberación controlada basada únicamente en el encapsulamiento de la atrazina con un agente apropiado sin que participen procesos de adsorción. En este contexto, se pueden mencionar los trabajos de Lobo *et al.*, (2011) que utilizaron PHBV como agente encapsulante, y los de Grillo *et al.*, (2012), Pereira *et al.*, (2014) y Preisler *et al.*, (2020) que emplearon PCL.

En el ensayo con PHBV, la eficiencia de encapsulación resultó muy baja, ubicándose en un rango entre 3,3 y 24,7%, coincidiendo con informes anteriores de otros investigadores que utilizaron el mismo procedimiento para encapsular diferentes principios activos, como por ejemplo, los de Sendil *et al.*, 1999, quienes evaluaron la utilización de las partículas de PHBV como sistema para la liberación controlada del antibiótico tetraciclina. Por el contrario, al utilizar PCL, la eficiencia de encapsulamiento fue mucho mayor obteniéndose porcentajes de encapsulamiento en el rango entre 86,7 % y 92 % que se consideran satisfactorios.

Las diferencias encontradas en los porcentajes de encapsulación se pueden relacionar, entre otros factores, con la afinidad entre el herbicida y el material encapsulante, asumiendo que una mayor afinidad aumenta la probabilidad de éxito del encapsulamiento, por lo cual, en virtud de los resultados obtenidos se podría concluir que el PCL sería una mejor alternativa.

Por otra parte, los resultados obtenidos por Pereira *et al.*, en relación a los perfiles de liberación del herbicida desde las partículas de PCL se muestran en la figura 53, observándose que, en el caso de la formulación comercial del herbicida, la pendiente inicial de la curva fue significativamente más pronunciada debido a la mayor concentración inicial de atrazina en la formulación comercial comparada con la formulación de liberación controlada. Además, al aplicar el modelo matemático de Korsmeyer y Peppas se comprobó que el mecanismo de liberación involucrado era el transporte anómalo, en el cual se combinan la difusión del principio activo y la relajación de las cadenas del polímero.

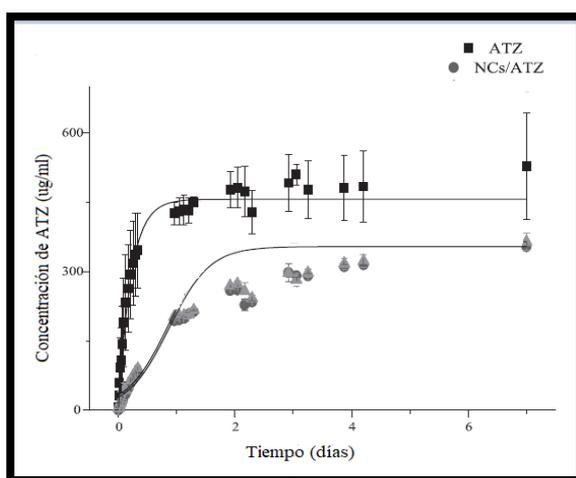


Figura 53. Perfil de liberación de la atrazina desde las partículas de PCL. Fuente: Pereira *et al.*, 2014.

Para evaluar la actividad herbicida, una de las especies seleccionadas fue *Bidens pilosa* (Preisler *et al.*, 2020). Durante el período de tiempo que duró el ensayo se contabilizaron diariamente la cantidad de semillas germinadas (con la plúmula visible) y muertas (con las hojas cotiledonares necróticas). No se observaron diferencias significativas en la germinación entre las formulaciones de liberación controlada y la formulación comercial del herbicida (fig. 54a). Por el contrario, si se observaron diferencias significativas en cuanto al mayor nivel de mortalidad de la maleza mediante la aplicación de las formulaciones de liberación controlada comparada con la formulación comercial (fig. 54b).

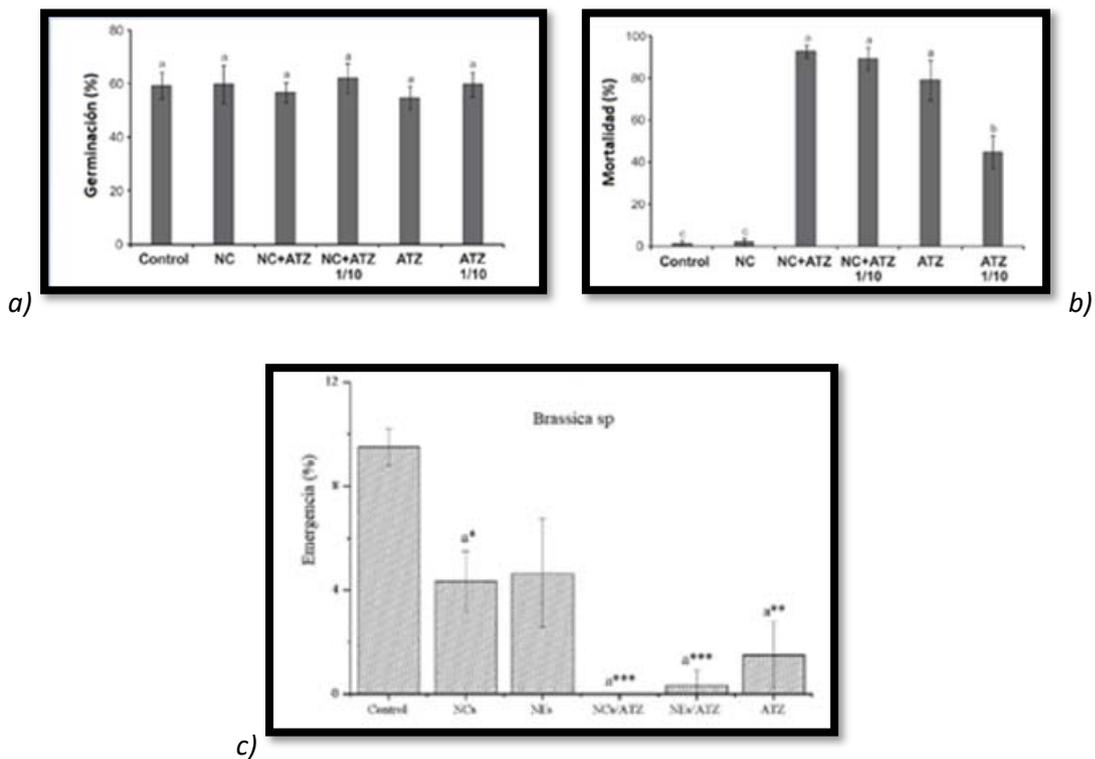


Figura 54. a)-b) Evaluación de la actividad herbicida sobre *Bidens pilosa* de las diferentes formulaciones. Control, NC (nano capsulas), NC + ATZ (nano capsulas c/atrazina), NC+ATZ 1/10 (nano capsulas c/atrazina diluida), ATZ (formulación comercial), ATZ 1/10 (formulación comercial diluida). Fuente: Preisler *et al.*, 2020. c) Evaluación de la actividad herbicida sobre *Brassica sp* de las diferentes formulaciones. Control, NCs (nano capsulas), NEs (nano esferas), NCs/ATZ (nano capsulas c/atrazina), NEs/ATZ (nono esferas c/atrazina), ATZ (atrazina comercial) Fuente: Pereira *et al.*, 2014.

Se estudió también la efectividad de las formulaciones frente a *Brassica sp* (Pereira *et al.*, 2014). En este caso, las formulaciones de liberación controlada tuvieron un mayor efecto de afección sobre el índice de germinación comparadas con la formulación comercial del herbicida (fig. 54c).

Por otra parte, en la figuras 55 a y b se muestran los resultados de los estudios tendientes a demostrar que el agente encapsulante no resultaba tóxico para el cultivo de maíz, a la vez que, en las formulaciones con la atrazina encapsulada, se mantenía la eficiencia de control sobre las malezas, que, en algunos casos, fue superior a la lograda con la formulación convencional, lo cual permite concluir que el mecanismo de acción del herbicida no se vio alterado por el encapsulamiento, dado que las plantas de maíz no fueron afectadas ante la aplicación del mismo.



Figura 55. a) Desarrollo de las plántulas de maíz y b) *Brassica sp.* a los 14 días luego de la aplicación de las diferentes formulaciones. Control, NCs (nano capsulas), NEs (nano esferas), NCs/ATZ (nano capsulas c/atrazina), NEs/ATZ (nono esferas c/atrazina), ATZ (atrazina comercial). Fuente: Pereira *et al.*, 2014

En resumen, dado que las formulaciones de liberación controlada presentaron un nivel de control similar o incluso superior en comparación al obtenido mediante la

formulación comercial, es posible concluir que el encapsulamiento no afectó la acción herbicida de la atrazina, si bien cabe aclarar que los resultados obtenidos en condiciones de campo podrían diferir como consecuencia de las variables ambientales.

En función de los resultados obtenidos se puede concluir que el encapsulamiento o la adsorción de la atrazina es una alternativa prometedora que parece poder cumplir con la premisa de lograr igual actividad herbicida, con menor cantidad de principio activo aplicado y menor impacto ambiental.

5.1.2 Ensayos realizados con paraquat y resultados obtenidos

En relación a los materiales utilizados para encapsular el paraquat se pueden mencionar, por ejemplo, los estudios que realizaron, Grillo *et al.*, (2014), quienes emplearon partículas compuestas por una combinación de quitosano y tripolifosfato (TPP); los de Silva *et al.*, (2011) que evaluaron una mezcla de quitosanos y alginatos; y los de Rashidipour *et al.*, (2019) y Ghaderpoori *et al.*, (2020), quienes ensayaron una combinación de TPP y quitosano, incorporando, además, pectinas en el primer caso y goma xántica en el segundo.

La incorporación de pectinas o goma xántica a las mezclas de quitosano y TPP, condujo a un aumento significativo de la eficiencia de encapsulación (de 63 a valores cercanos al 85 %). En el caso de la mezcla de alginato y quitosano la eficiencia de encapsulación fue del 74 %, superior la del quitosano y TPP, pero menor a la de la mezcla con pectina o goma xántica.

Los estudios morfológicos permitieron determinar que la combinación del quitosano, tanto con el TPP como con el alginato, conducía a la formación de partículas de forma esférica, con una estructura sólida (figs. 56 y 57). Por otra parte, el

entrecruzamiento electrostático entre el TPP o el alginato y los grupos amino del quitosano generó la formación de poros, como se observa en las imágenes obtenidas por SEM (fig. 58).

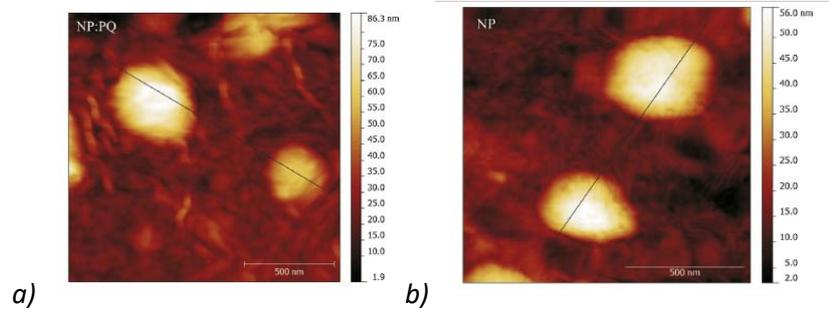


Figura 56. Imágenes obtenidas por AFM de las partículas de quitosano y TPP. a) sin paraquat b) con paraquat. Fuente: Grillo et al., 2014

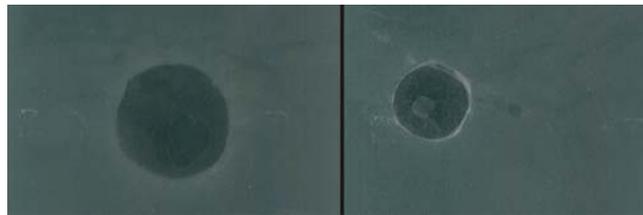


Figura 57. Imágenes obtenidas por TEM de las partículas de quitosano y alginato. Fuente: Silva et al., 2011

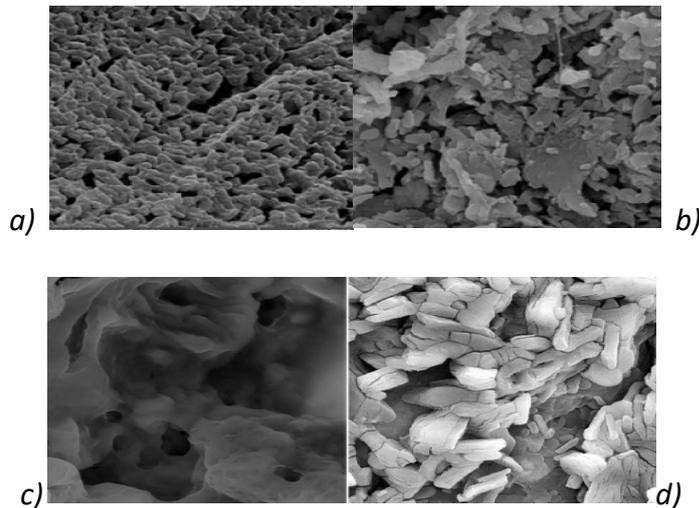


Figura 58. Imágenes obtenidas por SEM. a) partículas de quitosano, TPP y pectina s/PQ. b) partículas de quitosano, TPP y pectina c/PQ. Fuente: Rashidipour et al., 2019. c) Partículas de quitosano, goma xántica y TPP s/PQ. d) Partículas de quitosano, goma xántica y TPP c/PQ. Fuente: Ghaderpoori et al., 2020.

Es importante destacar que, en ambos casos, las partículas formadas resultaron estables durante el período de evaluación de 60 días, lo que permite concluir que la incorporación, tanto de la pectina como de goma xántica, a la combinación de quitosano y TPP resultan viables, por no afectar la estabilidad de la formulación.

Los estudios cinéticos de liberación del paraquat en agua, realizados según el método de compartimientos descrito en la sección 4.1.4.6 de este Trabajo de Tesis, resultaron también alentadores. Por ejemplo, en el caso de las partículas de quitosano y TPP, al cabo de 350 minutos sólo se detectó en el compartimiento aceptor el 70 % del herbicida encapsulado, mientras que, en las pruebas con el herbicida sin encapsular, en ese mismo período de tiempo, el 92% del paraquat se encontraba en el compartimiento aceptor (fig. 59a). De manera similar, Silva *et al.*, (2011) comprobaron que, cuando el agente encapsulante era quitosano y alginato, la detección del 100 % del herbicida en el compartimiento aceptor consumía 480 minutos, dos horas más que en el caso de la formulación convencional (fig. 59b).

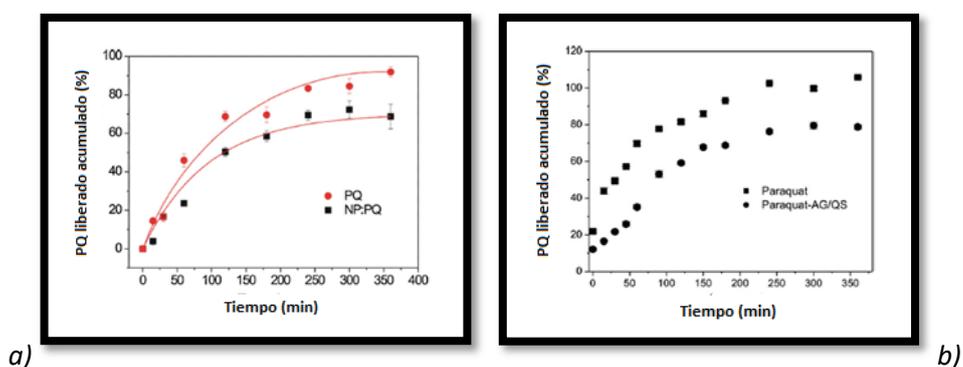


Figura 59. Perfiles de cinética de liberación del paraquat. Fuente: Grillo *et al.*, 2014. Silva *et al.*, 2011

Por otra parte, en el caso de las cápsulas de pectina, quitosano y TPP se observó que el 74,3% del herbicida se liberó luego de transcurridos 360 minutos (fig. 60a), mientras que, cuando en vez de pectina se utilizó goma xántica, la liberación del

paraquat encapsulado se produjo a una mayor velocidad, dado que al cabo de 270 minutos se había liberado el 89,92 % (fig. 60b). Lamentablemente, en estos últimos dos casos, los autores no informaron la curva de liberación del herbicida en su presentación comercial (Rashidipour (2019); Ghaderpoori (2020)).

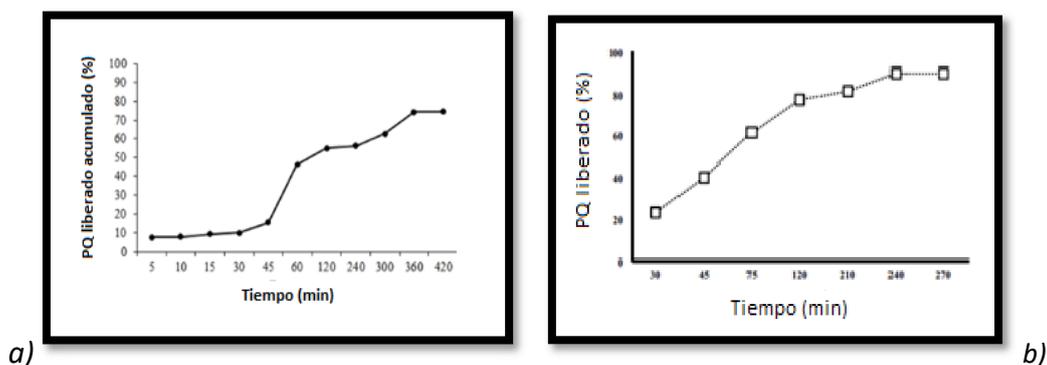


Figura 60. Cinética de liberación del paraquat encapsulado. Fuente: Rashidipour et al., 2019. Ghaderpoori et al., 2020.

Asimismo, dado que, como se mencionó anteriormente, la cantidad de herbicida disponible para ser adsorbido por las malezas puede disminuir como consecuencia de la adsorción del mismo en el suelo, se realizaron estudios de adsorción en suelo de las distintas formulaciones del paraquat. Como se puede observar en las isotermas que se muestran en la figura 61, tal como se esperaba, el paraquat contenido en las cápsulas de quitosano y TPP presentó un menor nivel de adsorción en suelo que la formulación comercial.

Además, los estudios realizados en columna de suelo (fig. 62) confirmaron una marcada reducción de la lixiviación del paraquat como consecuencia del encapsulamiento, dado que en las formulaciones con el herbicida encapsulado el mismo se acumuló mayoritariamente en los primeros centímetros del suelo, a diferencia de lo que ocurrió en los estudios realizados con la formulación comercial.

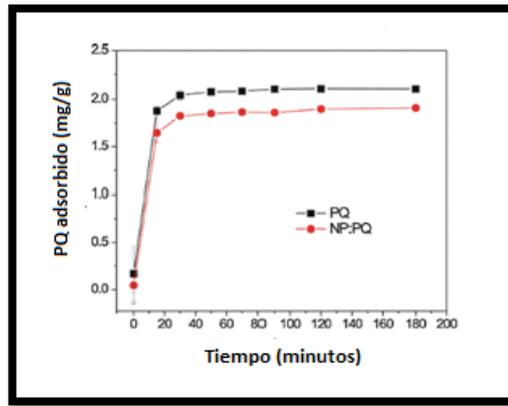


Figura 61. Isothermas de adsorción del paraquat en el suelo. Fuente: Grillo et al., 2014

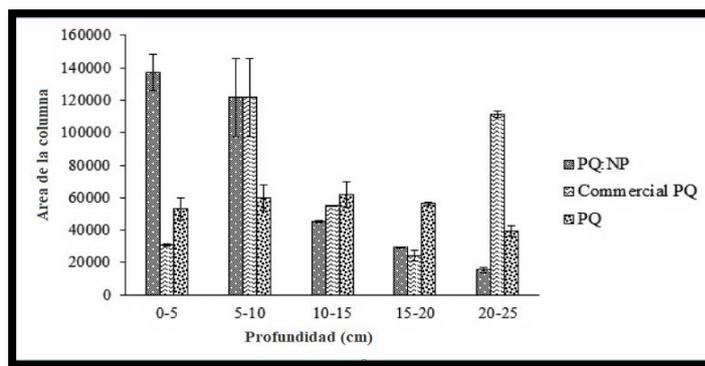


Figura 62. Ensayos en columnas de suelo. PQ:NP (paraquat encapsulado), PQ (paraquat sin encapsular), formulación comercial. Fuente: Rashidipour et al., 2019.

El equipo de Silva realizó, también, un estudio de la influencia del contenido de la materia orgánica en la adsorción del paraquat en el suelo, comparando una formulación comercial con la de liberación controlada y, contrariamente a lo que ocurrió con la formulación comercial, no se observó una influencia significativa de la variación en el contenido de materia orgánica en el caso de la formulación encapsulada

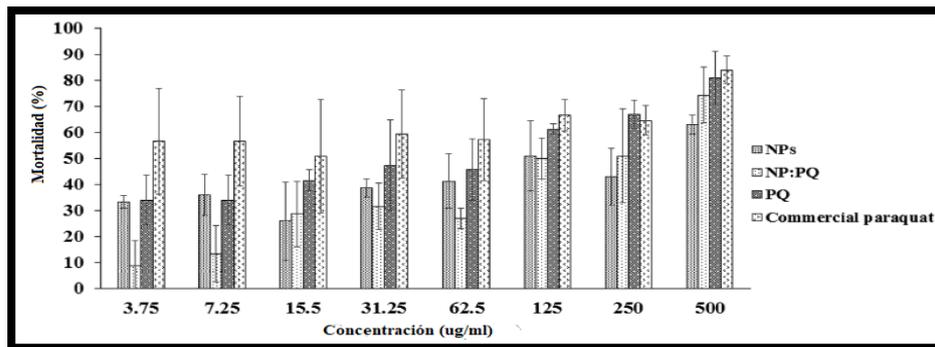
En resumen, los resultados permiten concluir que el encapsulamiento del paraquat es una alternativa viable a los fines de lograr una formulación que presenta como ventajas, además de la gradualidad en la liberación del herbicida, menor nivel de adsorción en suelo, menor influencia del contenido en materia orgánica del suelo en la

eficiencia de control y menor lixiviación, con la consecuente disminución del riesgo potencial de contaminación del agua subterránea.

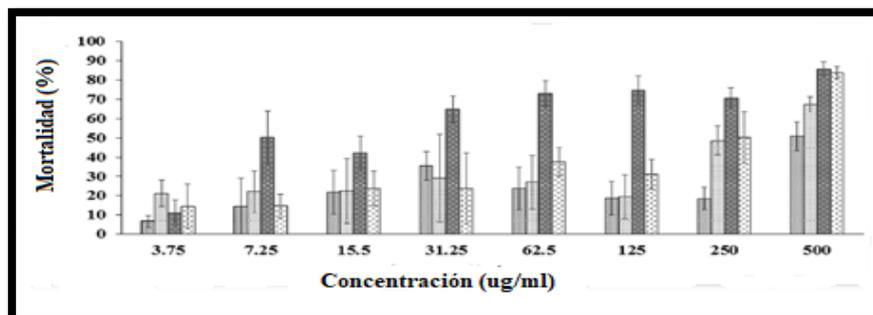
Respecto a la evaluación de la genotoxicidad de las diferentes formulaciones, realizados según la descripción de la sección 4.1.4.7, los resultados obtenidos en el test de *Allium cepa* mostraron que el daño producido en el ADN fue menor cuando el paraquat se encontraba asociado a las partículas de quitosano y TPP en comparación al daño que generó la utilización del herbicida puro.

Los estudios de citotoxicidad se realizaron sobre tres líneas de células: i) células KB (células de carcinoma humano nasofaríngeo) (fig. 63a), ii) células A 549 (células de adenocarcinoma humano del epitelio alveolar basal) (fig. 63b) ii) y iii) células CHO (células del epitelio ovárico del hámster chino) (fig. 63c); además en este último caso se determinó la Concentración Inhibitoria 50 (CI_{50}), la cual representa la concentración necesaria de una sustancia para inhibir a la mitad un proceso biológico.

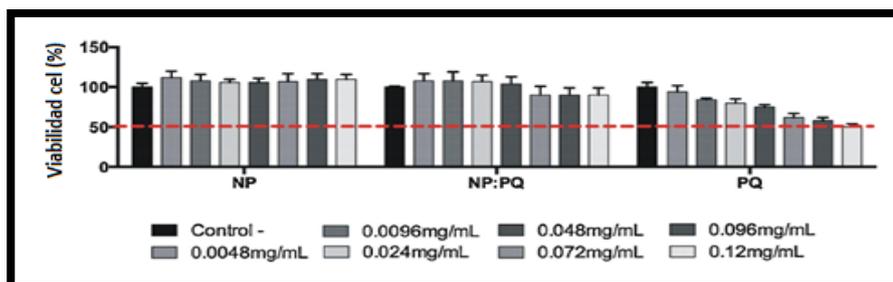
En los dos primeros casos se observó una menor mortalidad de las células cuando el herbicida se encontraba encapsulado en las partículas de quitosano, TPP y pectina. Por otra parte, como se muestra en la figura 63 c, el valor de la CI_{50} para el paraquat sin encapsular fue de 0,12 mg/ml, mientras que, al estar encapsulado, el herbicida no presentó efectos tóxicos a las concentraciones evaluadas, lo cual se ve reflejado en los valores de la viabilidad celular, que se mantuvieron cercanos al 100% durante todo el período que duró el ensayo.



a)



b)



c)

Figura 63. Evaluación de citotoxicidad en diferentes líneas de células. a) A549, b) KB Fuente: Rashidipour et al., 2019. c) CHO Fuente: Grillo et al., 2014.

Los ensayos tendientes a evaluar la actividad herbicida de las diferentes formulaciones se realizaron sobre el maíz, representando al cultivo de interés, y *Brassica sp*, representando la maleza a combatir. En la figura 64 se muestra el estado de las plantas de ambas especies al inicio del ensayo y a las 48 horas después de haber recibido la aplicación del herbicida. En el caso de las plantas de *Brassica sp*, el efecto herbicida obtenido mediante la aplicación del paraquat encapsulado con la mezcla quitosano/alginateo fue similar al de la aplicación del herbicida sin encapsular, lo cual se ve reflejado

en la figura 64 (C y D) y en el gráfico de la figura 65a. Por otra parte, de la figura 65b se desprende que el peso seco de las plantas de maíz fue similar, no habiéndose observado diferencias significativas en el mismo en función de ambas formulaciones del herbicida (comercial y de liberación controlada).

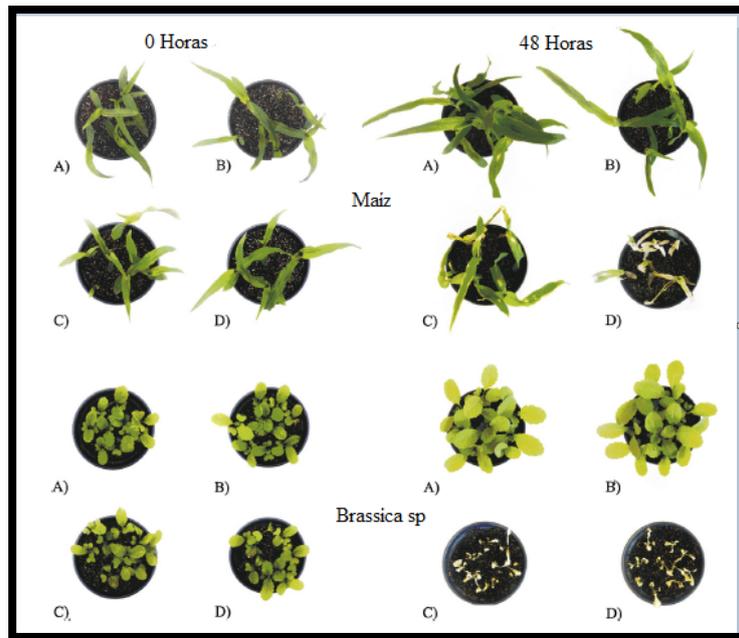


Figura 64. Evaluación de la actividad herbicida de las diferentes formulaciones en plantas de maíz y Brassica sp. A) control, B) partículas s/PQ, C) PQ comercial, D) PQ encapsulado. Fuente: Grillo et al., 2014.

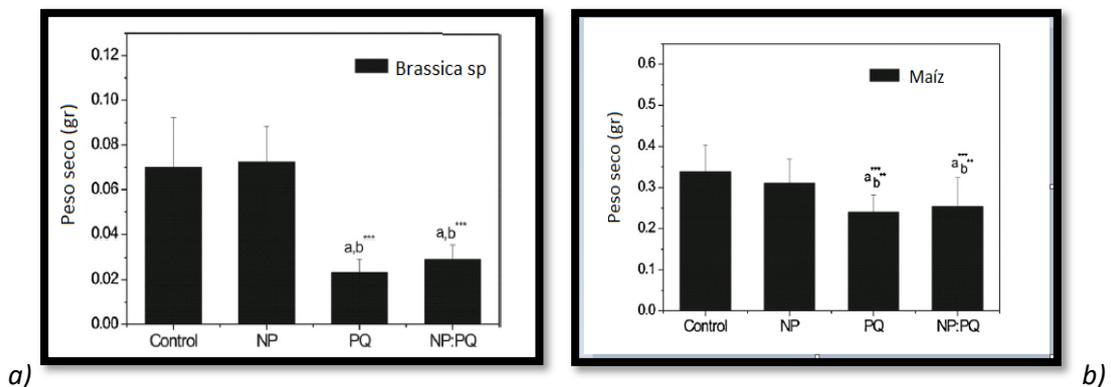


Figura 65. Evaluación de la actividad herbicida de las diferentes formulaciones en función del peso seco. a) Brassica sp, b) maíz. Fuente: Grillo et al., 2014.

Si bien la aplicación del paraquat en ambos tipos de formulaciones (sin encapsular y encapsulado en las partículas de quitosano/TPP/pectina afectó las plantas de ambas especies, el efecto herbicida fue mayor en el caso de *Brassica sp.*, lo cual se ve reflejado en los menores valores de peso seco de la maleza (fig. 66a) comparados con los del maíz (fig. 66b), luego del tratamiento.

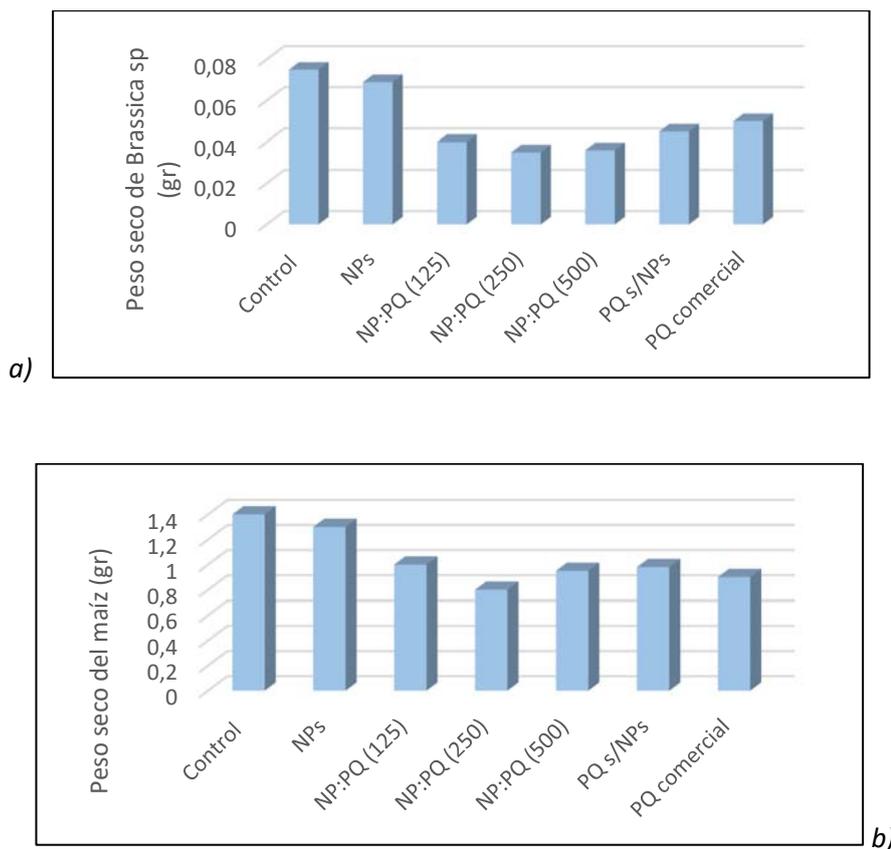


Figura 66. Evaluación de la actividad herbicida de las diferentes formulaciones. Control, nano partículas (NPs), nano partículas c/PQ (NP:PQ), PQ s/nano partículas (PQ s/NPs), PQ comercial Adaptado de Rashidipour et al., 2019

Por otra parte, el efecto herbicida sobre *Brassica sp* obtenido mediante la formulación de liberación controlada, fue mayor al de la formulación comercial, conforme se observa en la figura 67. La mayor eficiencia de acción del herbicida encapsulado con cubiertas de quitosanos podría estar también asociada a una mejora

en la adhesión de las cápsulas a la superficie foliar, con respecto al paraquat sin encapsular, dado que la facilidad de adhesión a la superficie foliar es una propiedad reconocida de los quitosanos.

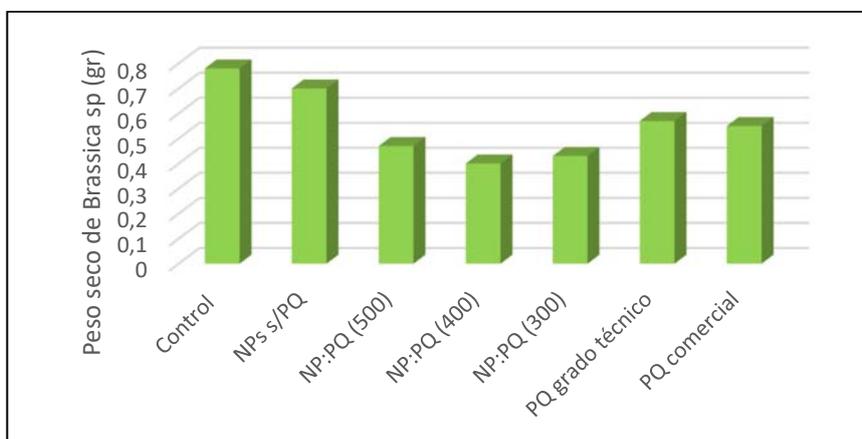


Figura 67. Evaluación de la actividad herbicida de las diferentes formulaciones. Control, nano partículas (NPs), nano partículas s/PQ (NPs s/PQ), nano partículas c/PQ (NP:PQ), PQ grado técnico, PQ comercial. Adaptado de Ghaderpoori et al., 2020

En resumen, los resultados obtenidos demostraron que los materiales seleccionados para encapsular el herbicida constituyen una alternativa viable para la elaboración de las formulaciones de liberación controlada, dado que no sólo la actividad herbicida sobre *Brassica sp* no se vio afectada, sino que además como consecuencia de la mejor adhesión de las partículas a la superficie foliar por efecto del quitosano, el efecto generado por el herbicida sería mayor.

5.1.3 Ensayos realizados con 2,4-D y resultados obtenidos

Con respecto a materiales usados como adsorbentes del 2,4-D para formulaciones de liberación controlada, se pueden mencionar, la cáscara de arroz, Evy et al., (2016); partículas de sílice mesoporosa, Cao et al., (2018), órgano montmorillonita, Hermosin et al., (2006); organo bentonitas y organo zeolitas, Shirvani et al., (2014); y un hidrogel de

goma gatti/ dimetiliacrilamida (DMA) /metilenbisacrilamida (MBA), en el cual incorporaron partículas de plata (Ag) a los fines de mejorar la biodegradabilidad del material y la liberación del herbicida (Babaladimath y Vishalaksh (2017)).

En relación a los resultados obtenidos respecto a la capacidad de adsorción de los diferentes materiales, en el caso de las cáscaras de arroz, la velocidad inicial del proceso de adsorción fue elevada, y el equilibrio se alcanzó luego de transcurridos 90 minutos. En el caso de las organo bentonitas, el nivel de adsorción y la velocidad del proceso fue superior al de las organo zeolitas, conforme se desprende de las respectivas isothermas de adsorción (fig. 68 a y b), haciéndose más notoria la diferencia entre los materiales cuando la cantidad de surfactante cetrimetilamonio (CTMA) utilizada en el pretratamiento de las arcillas fue mayor, debido posiblemente a un incremento de la afinidad entre el material adsorbente y el herbicida generada por la aplicación del CTMA. Las isothermas también reflejaron una mayor desorción del herbicida desde las organo zeolitas con valores aproximados de 44 mmol 2,4-D/kg, lo cual reflejó el grado de reversibilidad del proceso.

Similares resultados se obtuvieron cuando el material utilizado fue la organo montmorillonita, observándose que, en este caso, la afinidad entre el adsorbente y el herbicida se vio incrementada con el incremento en la cantidad de hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) utilizado en el pretratamiento, lo cual provocó un aumento, tanto de la velocidad como de la capacidad de adsorción, como se puede deducir analizando las isothermas de adsorción-desorción que se muestran en la figura 68c.

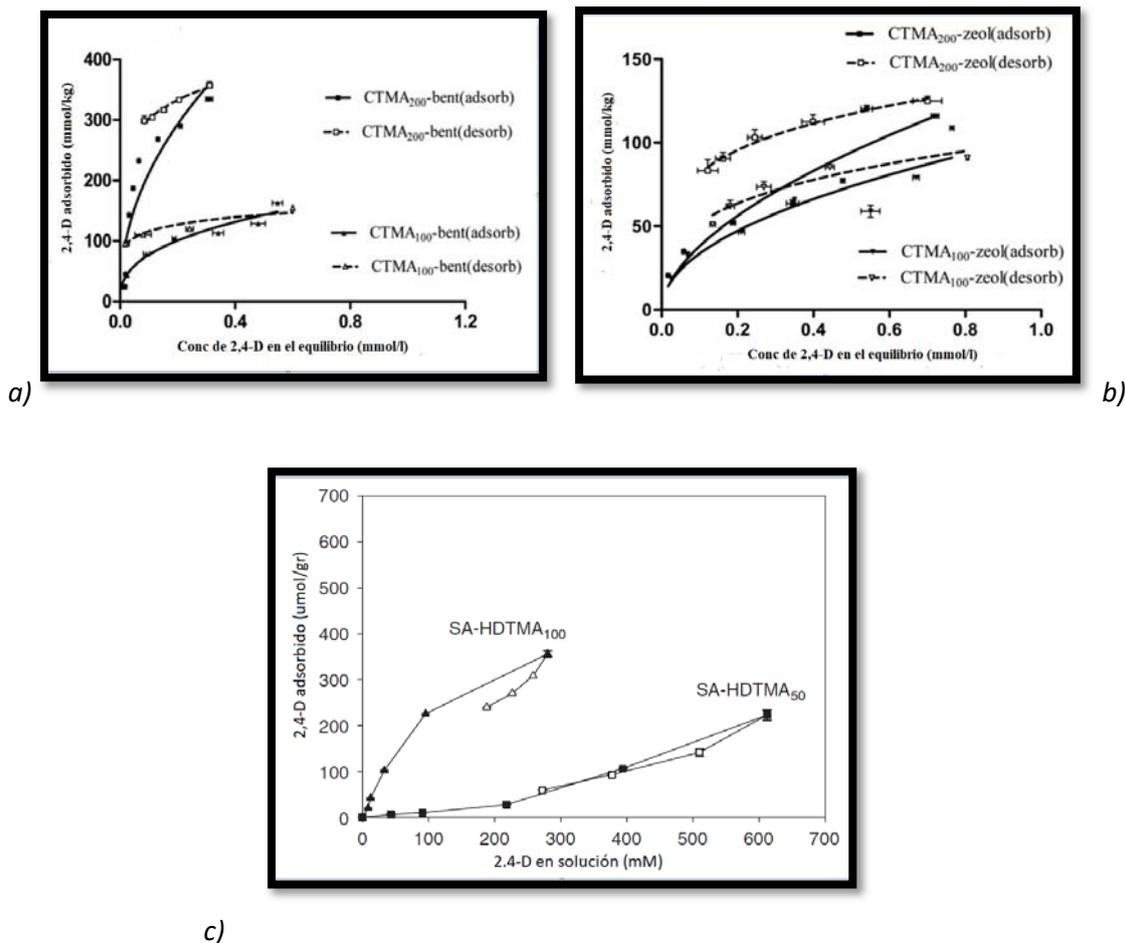


Figura 68. Isotermas de adsorción-desorción del 2,4-D. Fuente: Shirvani et al., 2014. Hermosin et al., 2006.

Los estudios de adsorción de 2,4-D sobre la sílice mesoporosa también resultaron satisfactorios. Como puede observarse en la figura 69, las isotermas se elaboraron en función de la adsorción del nitrógeno, dado que la misma representa la metodología más comúnmente utilizada en los materiales porosos. La presencia del herbicida dificulta la adsorción de nitrógeno, por lo cual las diferencias en cuanto a la adsorción del nitrógeno se atribuyen a la presencia del herbicida adsorbido en las partículas de sílice (fig. 69), por lo cual los resultados permitieron determinar que el nivel de adsorción del 2,4-D sobre la sílice mesoporosa fue adecuado.

Asimismo, en el caso del hidrogel, como era lo esperable, la eficiencia de adsorción disminuyó ante el aumento en el entrecruzamiento, sin embargo, la incorporación de las partículas de plata (Ag) generó un incremento en el nivel de adsorción que podría atribuirse a un disminución en el entrecruzamiento con el consecuente aumento en el tamaño de los poros, dado que la fuerte unión de las partículas de plata a las cadenas que componen la matriz del gel, reduce las interacciones Inter segmentales lo cual aumenta la capacidad de hinchamiento.

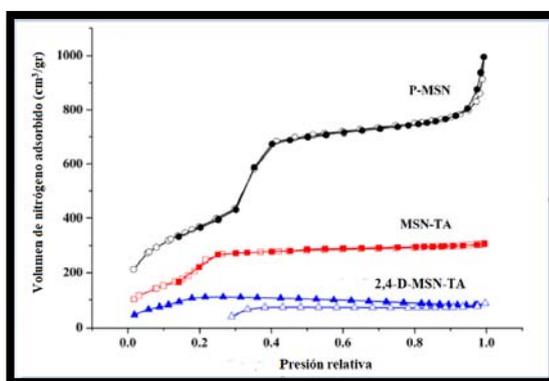


Figura 69. a) Isotermas de adsorción del nitrógeno en las partículas de sílice mesoporosa: prístina (P-MSN), tratada con trimetilamonio (MSN.TA), conteniendo el 2,4-D (2,4-D-MSN). Fuente: Cao et al., 2018.

En resumen, los resultados obtenidos permiten concluir que los materiales evaluados, como así también el tratamiento con surfactantes de los mismos, constituyen alternativas viables a los fines de lograr un adecuado nivel de adsorción del herbicida 2,4-D.

Con respecto a los ensayos correspondientes a la evaluación de la cinética de liberación, en la figura 70 se muestran los perfiles de liberación en agua del herbicida adsorbido en las cáscaras de arroz. En este caso, el equilibrio se alcanzó al segundo día, y la liberación fue lenta y sostenida, lo cual podría deberse a una fuerte interacción entre

el material adsorbente y el herbicida, habiéndose conseguido, además, para el caso de la mejor formulación, mantener la liberación constante durante un período de seis días (fig. 70a, curva 2). De manera similar, cuando se utilizaron las organo bentonitas y zeolitas, luego de transcurridas las primeras horas de iniciado el ensayo, casi la totalidad de la formulación comercial del herbicida se encontraba en el compartimiento aceptor (fig. 70b, curva 1), mientras que, en el caso de las formulaciones de liberación controlada, al igual que en el caso de las cáscaras de arroz, el equilibrio se alcanzó al segundo día. Asimismo como mencionamos anteriormente, el tratamiento de las arcillas con el CTMA generó un incremento en la afinidad entre estas últimas y el herbicida y, como consecuencia, luego de transcurridos siete días, solo se había liberado el 22% del herbicida adsorbido en las bentonitas-CTMA₂₀₀ (fig. 70b, curva 5), mientras que, en el mismo período de tiempo, se liberó alrededor del 60% del herbicida adsorbido en las bentonitas-CTMA₁₀₀ (fig. 70b, curva 2) y en las zeolitas (fig. 70b, curvas 3 y 4).

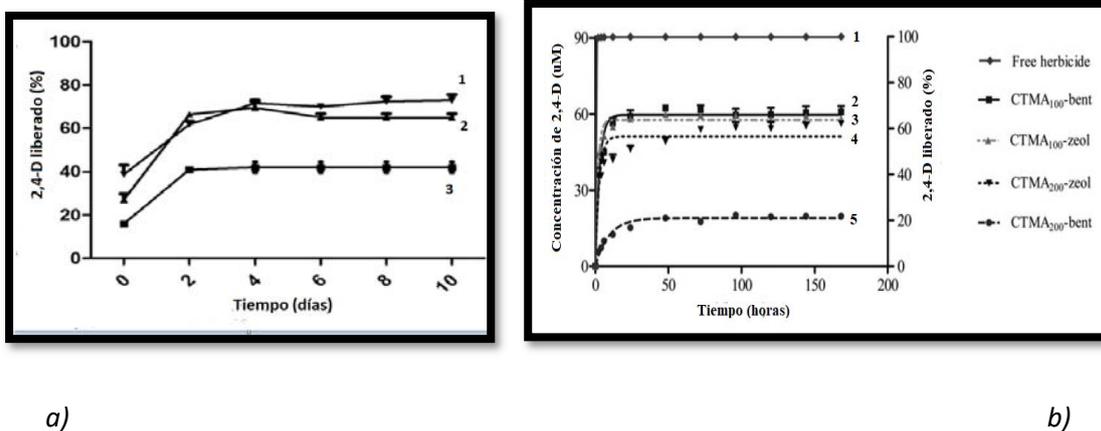


Figura 70. Perfiles de cinética de liberación en agua del 2,4-D. Fuente: Evy et al., 2016. Shirvani et al., 2014.

De manera similar, cuando se utilizó montmorilonita como material adsorbente, el equilibrio se alcanzó entre el primer y el segundo día, mientras que, en el caso de la

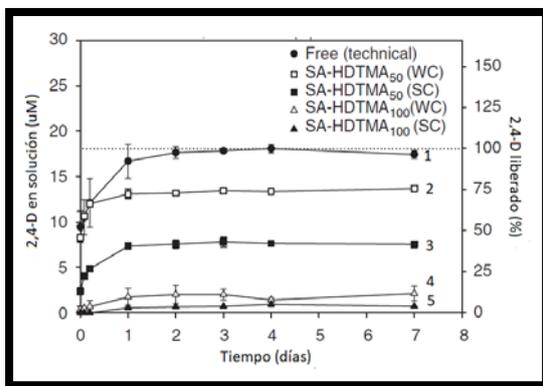
formulación comercial del herbicida, el 53% de la misma migró al compartimiento aceptor al poco tiempo de iniciado el ensayo (fig. 71a, curva 1). De la fig. 71a también se desprende que, al igual que en los casos anteriores, la cinética liberación se vio influenciada por el nivel de afinidad entre el material adsorbente y el herbicida relacionada con el tipo de interacciones fuerte (SC) o débiles (WC) entre el 2,4-D y el material adsorbente (fig. 71, curvas 4 y 5).

Por otra parte, en el caso de las partículas de sílice mesoporosa, el equipo de Cao *et al.*, (2018) evaluó la cinética de liberación del herbicida en agua bajo diferentes condiciones de pH y temperatura y observó que, a pH 3, luego de 2 horas sólo se había liberado el 16%, mientras que, en el mismo período de tiempo, a pH 10 el porcentaje de liberación del herbicida había sido 43% (fig. 71 b). Con respecto a la influencia de la temperatura en la liberación, los resultados mostraron un aumento en el porcentaje de liberación en función del aumento de la temperatura, observando a 20, 30 y 40°C, una liberación del 53, 75 y 96% del herbicida, respectivamente, luego de transcurridas 15 horas (fig. 71c).

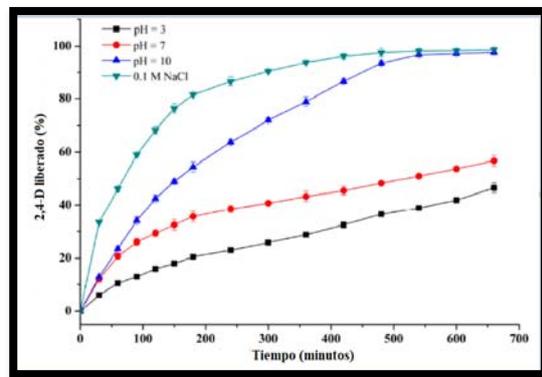
Por último, los perfiles correspondientes a la cinética de liberación del herbicida desde el hidrogel se observan en la figura 71d. En este caso, se pudo comprobar que la liberación disminuyó ante el incremento en la reticulación del material adsorbente, dado que a mayor reticulación disminuye el volumen disponible para el ingreso de las moléculas de agua, lo cual reduce la difusión del herbicida. Asimismo, los resultados obtenidos mostraron que, en ausencia de las partículas de Ag, el 50% del herbicida se liberó al cabo de 6, 5 y 4,5 horas en función de la composición del gel respecto a la concentración de MBA, 0,097, 0,194 y 0,291, respectivamente. Sin embargo, ante la incorporación de las partículas de Ag, la liberación del 50% del herbicida se produjo

luego de transcurridas 12, 10 y 9 horas, respectivamente (fig. 71e), lo cual indica la influencia de la composición del gel sobre el proceso de liberación.

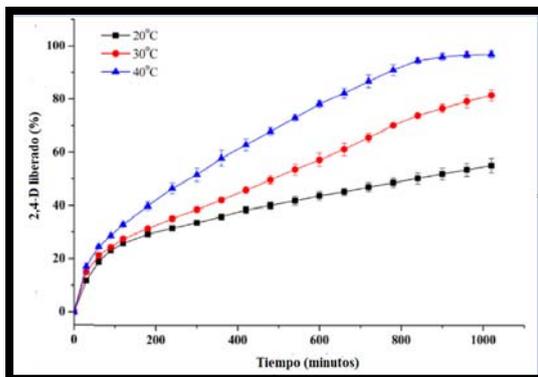
En resumen, los resultados obtenidos permiten concluir que los materiales utilizados constituyen opciones válidas para lograr la liberación controlada del 2,4-D, habiéndose observado diferencias en la cinética de liberación en función del grado de afinidad entre el adsorbente y el herbicida, y de las condiciones de pH y temperatura del medio.



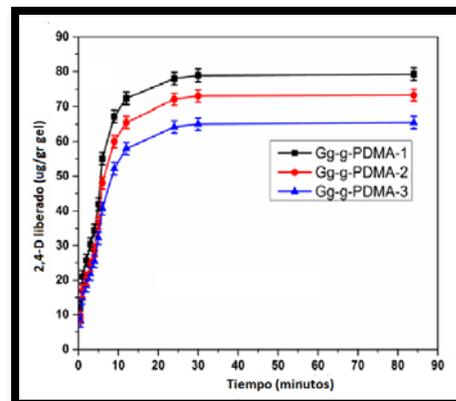
a)



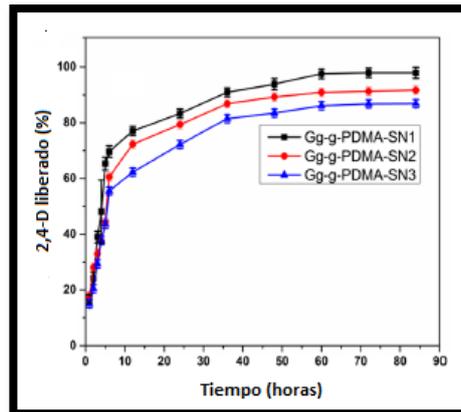
b)



c)



d)



e)

Figura 71. Evaluación de la cinética de liberación en agua del 2,4-D. Fuente: Hermosin et al., 2014. Cao et al., 2018. Babaladimath y Vishalakshi., 2017.

Por otra parte, a los fines de evaluar la lixiviación de las diferentes formulaciones, se realizaron ensayos en columnas de suelo, cuya metodología fue explicada en el apartado 4.1.4.6 de la sección materiales y métodos.

Los estudios demostraron que el 2,4-D adsorbido en la organo montmorillonita presentaba un menor nivel de lixiviación que la formulación comercial (fig. 72a). De manera similar, la adsorción en las organo bentonitas y zeolitas también condujo a una reducción en el nivel de lixiviación del herbicida, dado que, como puede observarse en la figura 72b, las formulaciones de liberación controlada ejercieron la actividad herbicida en los primeros 5 cm de profundidad del suelo, lo cual se vio reflejado en los menores niveles de producción de materia seca de *Lepidium sativum* (berro), mientras que en el caso de la formulación comercial, la acción herbicida se desarrolló entre los 10 y los 25 cm de profundidad, lo que demuestra la mayor lixiviación de la formulación comercial. En el caso de las partículas de sílice mesoporosa, la formulación de liberación controlada también condujo a una significativa reducción de la lixiviación con respecto a la formulación comercial (fig. 72c).

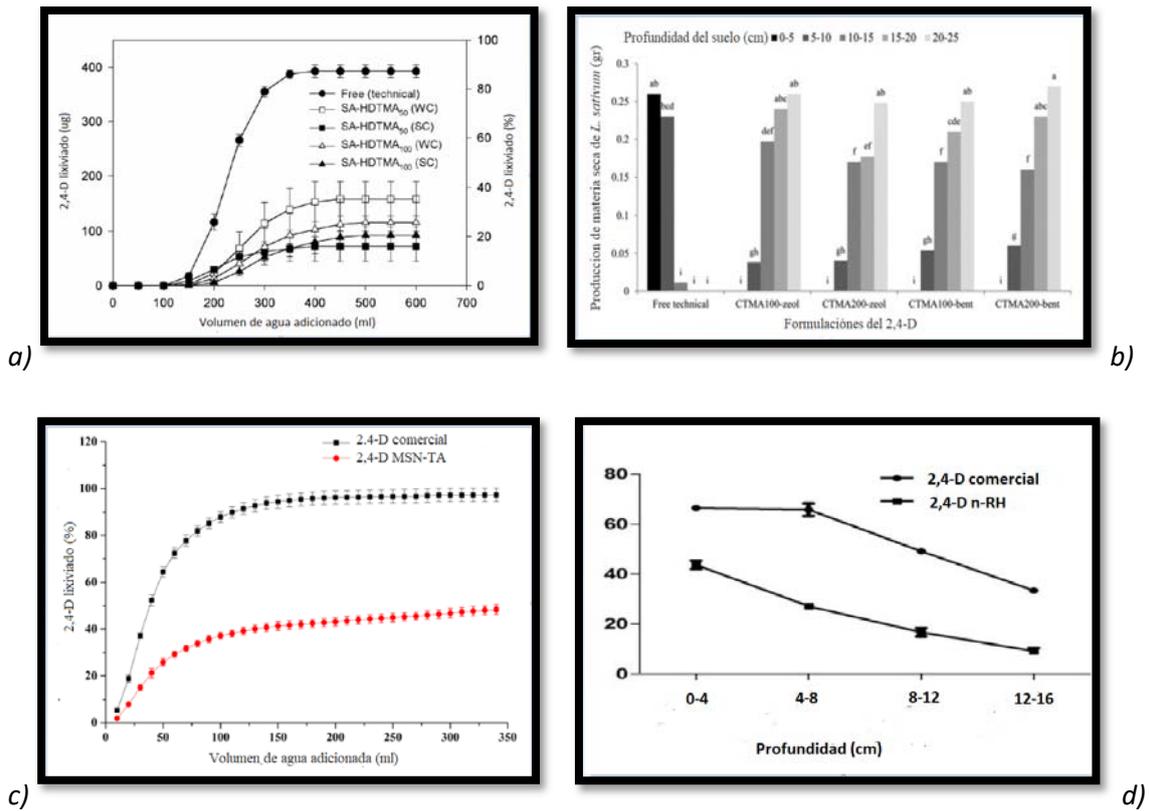


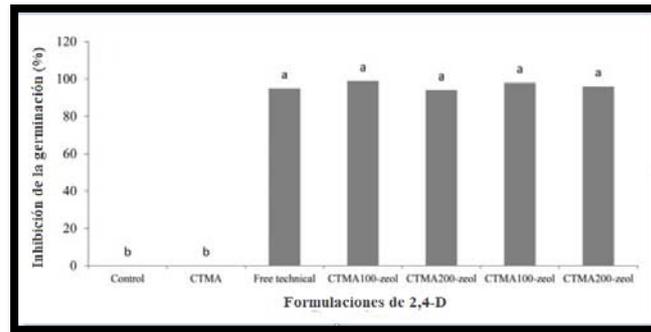
Figura 72. Evaluación de la lixiviación en columnas de suelo. Fuente: Hermosin et al., 2006. Shirvani et al., 2014. Cao et al., 2018. Evy et al., 2016.

También se observó menor lixiviación cuando el material adsorbente fueron las cáscaras de arroz, dado que el herbicida quedó más retenido en los primeros centímetros del suelo, mientras que el herbicida comercial, debido al mayor grado de lixiviación se distribuyó a lo largo de todo el perfil, conforme se desprende de la figura 72d. En este caso, también se evaluó la lixiviación de las diferentes formulaciones en función de la actividad herbicida sobre *Brassica sp* en los distintos segmentos de profundidad del suelo. Los resultados obtenidos mostraron que la actividad herbicida de la formulación de liberación controlada se desarrolló principalmente en los primeros centímetros de profundidad del suelo, dado que se observó un mayor nivel de crecimiento de *Brassica sp* a mayores profundidades, confirmando la menor lixiviación del 2,4-D cuando se hallaba adsorbido sobre las cáscaras de arroz.

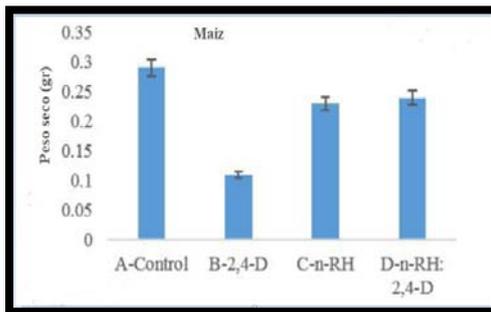
En resumen, los resultados obtenidos demostraron la aptitud de los materiales analizados para obtener formulaciones de liberación controlada que permitan lograr una reducción en el nivel de lixiviación, a los fines de disminuir el potencial riesgo de contaminación del agua subterránea.

Por último, en cuatro de los trabajos analizados se realizaron ensayos tendientes a evaluar la actividad herbicida de las diferentes formulaciones. En el caso de las arcillas bentonitas y zeolitas, ambas formulaciones (de liberación controlada y comercial) mostraron un nivel de control similar sobre *Trifolium repens* (trébol), conforme se desprende de los resultados obtenidos, dado que estadísticamente no se observaron diferencias significativas (fig. 73a). Asimismo, similares resultados se reportaron al emplear la arcilla montmorillonita como material adsorbente, dado que al igual que en el caso anterior, las diferentes formulaciones no mostraron diferencias en relación a la eficiencia de control.

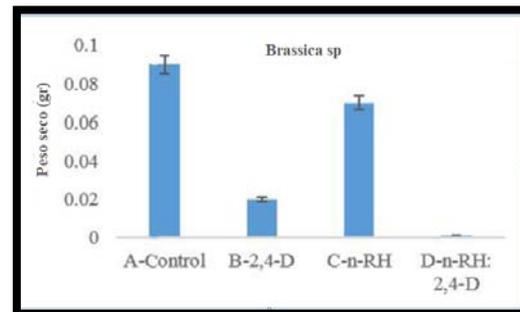
Por otra parte, en el caso de las cáscaras de arroz, el equipo de Evy *et al.*, (2016), evaluó el efecto de la aplicación de las diferentes formulaciones en la germinación de las semillas de maíz y de *Brassica sp.* En el caso del maíz, la adsorción no generó modificaciones en la actividad herbicida, dado que las plantas de maíz no se vieron afectadas, mientras que en el caso de *Brassica sp.*, la formulación de liberación controlada mostró una mayor eficiencia de control comparada con la comercial. Los resultados descriptos se ven reflejados en los gráficos de las figuras 73 b y c, en los cuales se observa la producción de materia seca de ambas especies. En las figuras 74 a y b, se observa el estado de desarrollo de ambas especies luego de la aplicación de las diferentes formulaciones.



a)

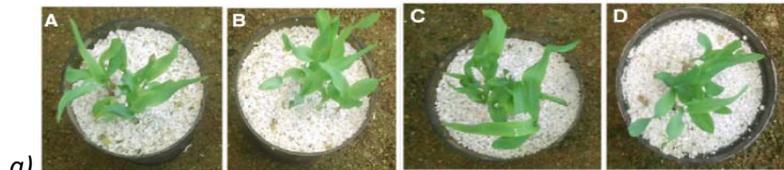


b)

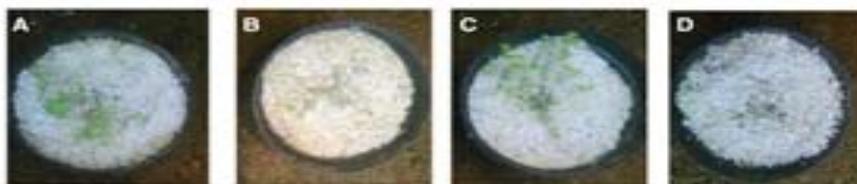


c)

Figura 73. Evaluación de la actividad herbicida. Fuente: Shirvani et al., 2014. Evy et al., 2016.



a)



b)

Figura 74. Evaluación de la actividad herbicida sobre maíz (a) y Brassica sp. (b) de las diferentes formulaciones. A) control, B) formulación convencional, C) cáscaras de arroz s/herbicide, D) formulación de liberación controlada. Fuente: Evy et al., 2016.

Por otra parte, el equipo de Cao et al., (2018) tampoco informó diferencias significativas en relación a la actividad herbicida de las formulaciones de liberación controlada y de la formulación comercial, lo cual se ve reflejado en la figura 75a y en el

gráfico de la fig. 75b, los cuales se observan niveles similares en la inhibición del crecimiento radicular y en el peso fresco de *Cucumis sativus* (pepino).

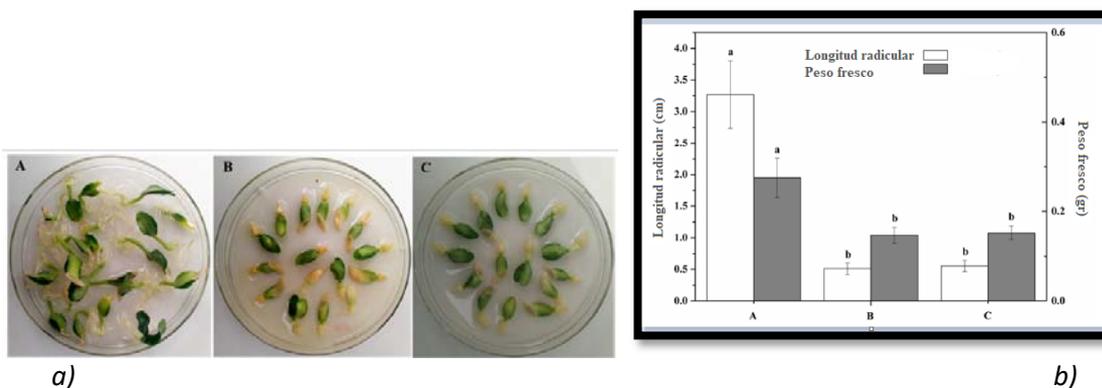


Figura 75. Evaluación de la actividad herbicida de las diferentes formulaciones sobre *Cucumis sativus*. A) Control, B) Formulación comercial, C) Formulación de liberación controlada. Fuente: Cao et al., 2018.

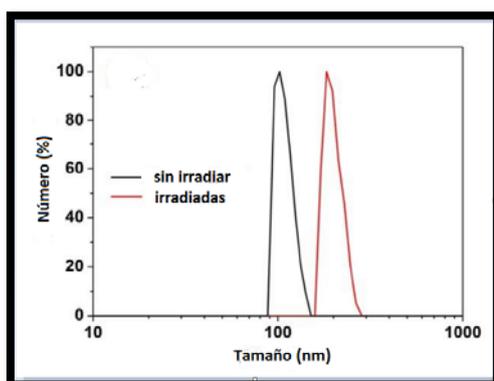
En resumen, los resultados obtenidos permiten concluir que la adsorción en los diferentes materiales no afectó la actividad herbicida, dado que las plantas de maíz no se vieron afectadas, y además la eficiencia de control obtenida mediante la aplicación de la formulación comercial y de las formulaciones de liberación controlada fue similar, lo cual demuestra la viabilidad de estas últimas para ser utilizadas a los fines de disminuir el impacto ambiental manteniendo a su vez un adecuado nivel de control.

Con respecto a la estrategia de encapsular el 2,4-D para elaborar las formulaciones de liberación controlada se puede mencionar, por ejemplo el trabajo de Feng *et al.*, (2020), que utilizaron como agente encapsulante una combinación de carboximetilquitosano y dietilamina cumarina, logrando encapsular el herbicida en un biopolímero “inteligente” sensible a estímulos luminosos, mientras que Hussein *et al.*, (2005) y Nguyen *et al.*, (2017), emplearon un hidróxido doble laminado (LDH en inglés) de zinc y aluminio como agente encapsulante, denominando al material resultante como ZAL.

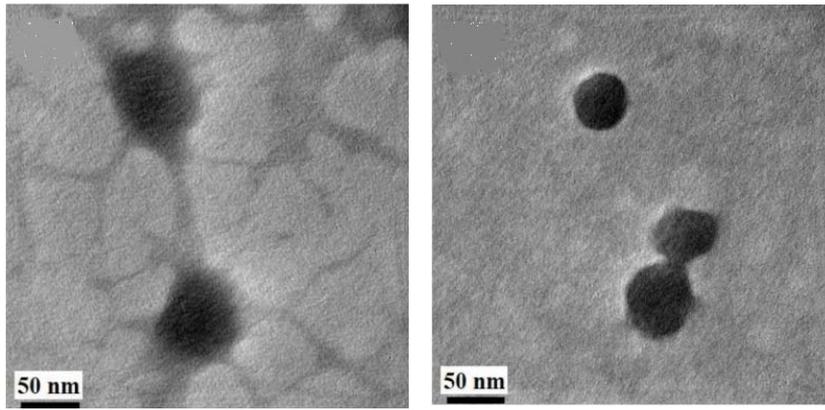
En el trabajo de Feng *et al.*, se realizó un ensayo de dispersión dinámica de la luz (DLS) a los fines de caracterizar las micelas obtenidas, siguiendo la metodología explicada en el apartado 4.1.4.4 de la sección materiales y métodos. La distribución del tamaño de las micelas irradiadas y sin irradiar, se muestran en la figura 76a, en la que se puede observar un aumento promedio de casi 100 nm en el diámetro de las micelas como consecuencia de la irradiación. Además, en las imágenes obtenidas por TEM (fig. 76 b y c), se puede observar la forma esférica de las mismas.

La respuesta del material a los estímulos lumínicos para la liberación del herbicida fue muy buena, detectándose que, cuando se irradió la formulación se liberó el 90 % del 2,4-D a los 500 minutos, mientras que durante el mismo período de tiempo y en ausencia de irradiación, el porcentaje de liberación fue del 65% (fig. 77).

Con respecto a las partículas compuestas por 2,4-D encapsulado utilizando una cubierta de hidróxido de zinc y aluminio, las imágenes obtenidas por SEM, antes (figs. 78 a y c) y después de la incorporación del 2,4-D (figs. 78 b y d), permiten observar que, luego de la incorporación del herbicida, las mismas presentan una morfología irregular con una estructura de aglomerados compactos.



a)



b)

c)

Figura 76. Estudios de caracterización de las micelas. a) DLS. b) Imágenes TEM. c) Imágenes TEM después de la irradiación. Fuente: Feng et al., 2020.

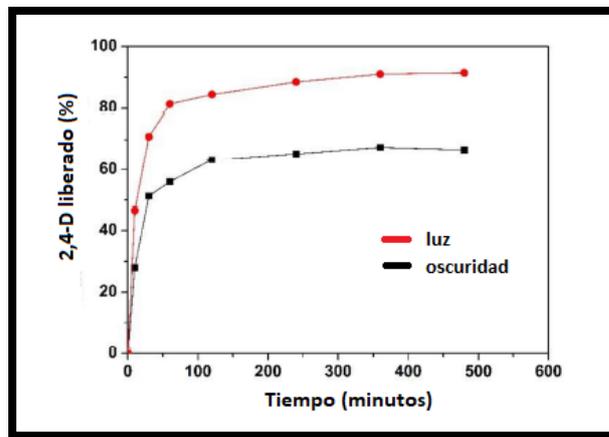
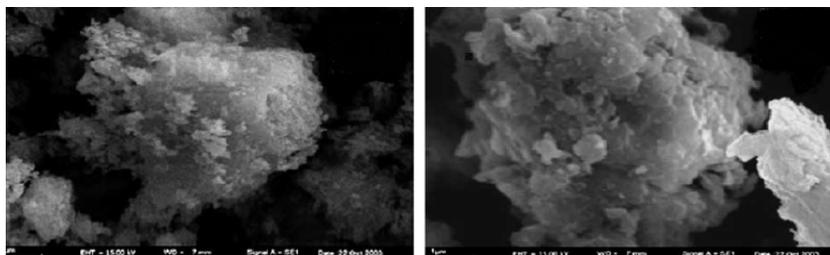
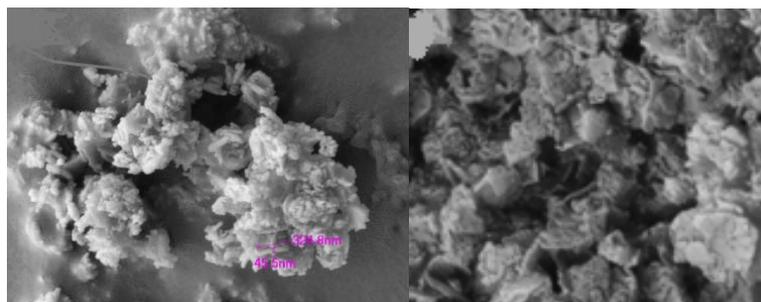


Figura 77. Liberación del 2,4-D desde las micelas de carboximetilquitosano y dietilamina cumarina bajo condiciones de luz y oscuridad. Fuente: Feng et al., 2020.



a)

b)



c)

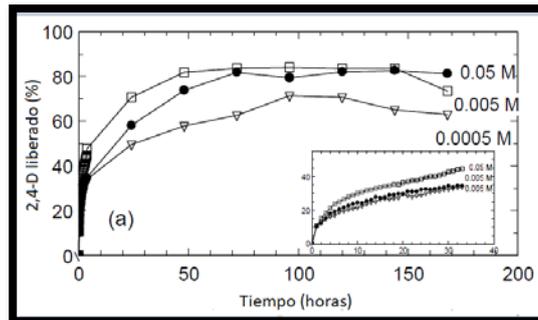
d)

Figura 78. Imágenes SEM del DLH de zinc y aluminio. a y c) Antes de la incorporación del herbicida, b y d) después de la incorporación del herbicida. Fuente: Hussein *et al.*, 2005. Phuong *et al.*, 2017.

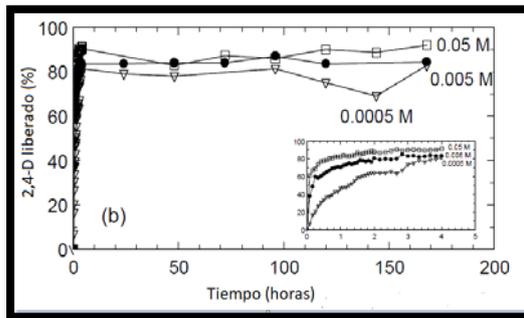
Asimismo, el equipo de Hussein *et al.*, evaluó la cinética de liberación del del herbicida en: i) solución de cloruro de sodio (NaCl), ii) solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) y iii) en agua destilada.

En el caso de la solución de NaCl, el equilibrio se alcanzó luego de transcurridas 100 horas, y el porcentaje de liberación se incrementó en función del aumento de la concentración de la sal en la solución (fig. 79a). Por otra parte, en la solución de Na_2CO_3 , el equilibrio se alcanzó más rápidamente (a las 40 horas) y, en este caso, la liberación también se vio favorecida con el aumento de la concentración del carbonato en la solución (fig. 79b).

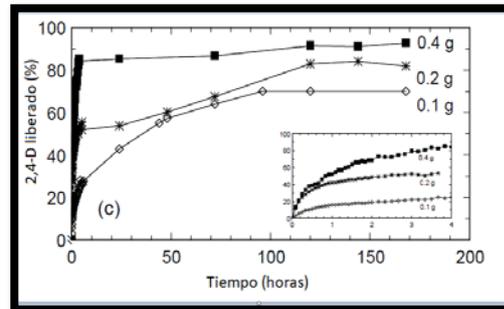
Por último, en el caso del agua destilada, el equilibrio se alcanzó luego de transcurridas 120 horas, y el porcentaje de 2,4-D liberado fue proporcional a la cantidad de ZAD (ZAL conteniendo el 2,4-D) incorporada en el agua destilada, observándose la liberación del 80 y 90% del herbicida ante el agregado de 0,2 y 0,4 g de ZAD respectivamente (fig. 79c).



b)



c)



d)

Figura 79. Evaluación de la cinética de liberación del 2,4-D en diferentes medios. a) solución de cloruro de sodio (NaCl), b) solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3), c) agua destilada. Fuente: Hussein et al., 2005.

En resumen, los resultados obtenidos demostraron la aptitud de los materiales analizados para lograr la liberación controlada del herbicida y, puntualmente, la factibilidad de usar cumarina para lograr cubiertas sensibles a los estímulos lumínicos.

Por último, al igual que en el trabajo de Cao *et al.*, en el cual el 2,4-D se encontraba adsorbido en las partículas de sílice mesoporosa, el equipo de Feng *et al.*, también utilizó la especie *Cucumis sativus* (pepino) en el ensayo para evaluar la actividad herbicida de la formulación de liberación controlada (fig. 80a). En este caso, los resultados obtenidos mostraron que el encapsulamiento no afectó la actividad herbicida, lo cual se ve reflejado en el gráfico de la figura 80b, dado que entre ambas formulaciones (comercial y de liberación controlada) no se observaron diferencias significativas en función del peso fresco y de la inhibición del crecimiento radicular.

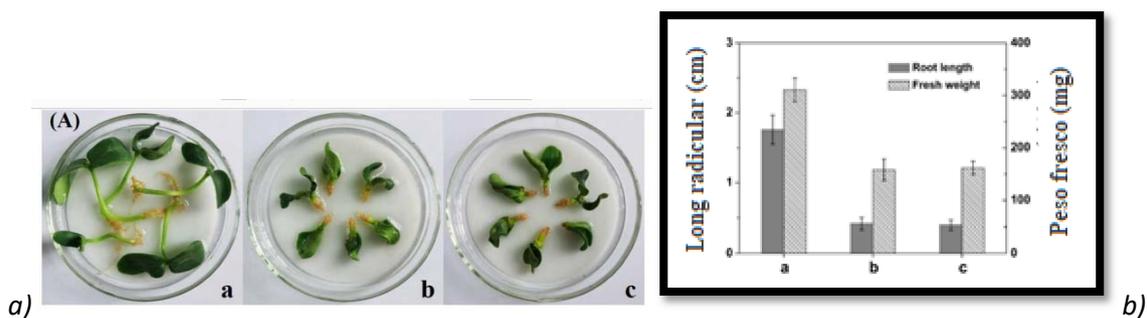


Figura 80. Evaluación de la actividad herbicida sobre *Cucumis sativus*. a) Control, b) Formulación comercial, c) Formulación de liberación controlada. Fuente: Feng et al., 2020.

6. CONCLUSIONES

Luego de haber finalizado la investigación bibliográfica sobre la temática planteada, a continuación, se expondrán las principales conclusiones.

En el caso del maíz, al igual que en la mayoría de los cultivos agrícolas, la utilización de herbicidas se ha incrementado considerablemente en las últimas décadas, por ser la principal herramienta con la que cuentan los productores para el manejo de malezas en los sistemas de siembra directa. Lamentablemente, como se mencionó anteriormente, las formulaciones convencionales de herbicidas tienen un bajo nivel de eficiencia debido a que, luego de la aplicación, los principios activos se ven afectados por procesos de retención, transporte y degradación entre otros, que traen como consecuencia que la proporción de utilización efectiva sea sólo del 10 al 30% de la concentración aplicada. Surge por lo tanto la necesidad de incrementar la dosis a los fines de mantener la concentración del principio activo dentro del rango de efectividad, lo cual trae aparejado un aumento en el impacto negativo de su aplicación tanto para la salud humana o animal como para el medio ambiente, así como también un incremento en los costos de producción.

En este contexto, una de las alternativas que ha surgido en los últimos años se basa en el desarrollo de formaciones de liberación controlada, las cuales, como hemos mencionado durante el desarrollo de este Trabajo de Tesis, permiten lograr la liberación gradual del principio activo, prolongando su acción por un mayor período de tiempo y protegiéndolo a su vez de la degradación. El material seleccionado como adsorbente o encapsulante debe ser ambientalmente amigable y tener alta eficiencia de retención del principio activo por encapsulamiento o adsorción. Es además importante que la formulación se mantenga estable durante un prolongado período de tiempo.

Con respecto a la eficiencia de los materiales para actuar como encapsulantes o adsorbentes, el análisis de los resultados relevados, permite concluir la importancia de analizar la compatibilidad química entre el principio activo y los materiales seleccionados. La relevancia de este análisis se puso de manifiesto en la baja eficiencia de encapsulamiento de la atrazina en PHBV.

Los ensayos de actividad herbicida mostraron que el encapsulamiento y la adsorción no afectaron al principio activo, dado que los niveles de control obtenidos mediante la aplicación de las formulaciones de liberación controlada fueron similares y, en algunos casos, superiores a los de las formulaciones convencionales. Se observó, también, en el caso de las formulaciones de liberación controlada, una disminución en los niveles de lixiviación, lo cual reduce el potencial riesgo de contaminación del agua subterránea. Sin embargo, resulta importante aclarar que dichas evaluaciones no fueron efectuadas en ensayos en campo sino bajo condiciones de laboratorio, por lo que faltaría realizar estudios en condiciones de campo, para analizar el efecto de las variaciones ambientales en el comportamiento de los herbicidas en las nuevas formulaciones

Finalmente, los trabajos analizados permitieron comprobar la hipótesis planteada en esta Tesis, dado que los resultados informados por los distintos autores evidenciaron las ventajas que presentan las formulaciones de liberación controlada frente a las formulaciones convencionales, tanto económicas como ambientales, demostrando la importancia de invertir esfuerzos en lograr expandir el uso de esta tecnología para el control de malezas.

7. REFERENCIAS

Abbas, H.H., Elbashir, A.A., Hassan Y, Aboul – Enein. (2015). Chromatographic Methods for Analysis of Triazine Herbicides. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. núm 45.

Abendroth, L.J., Elmore, R.W., Boyer, M.J., Marlay, S.K. (2011). *Corn Growth and Development*. PMR 1009. Iowa State University Cooperative Extension Service, Iowa

Akintui, M., Alcantara, H., Alva, A., Castillo, H., Huayan, J., Llenque, L. (2015). *Pseudomonas fluorescens* de suelos agrícolas degradadora del herbicida ácido 2,4 Diclorofenoxiacético. *Rebiolest*. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Perú

Andrade, F.H. (1993). Crecimiento y rendimiento comparados de maíz, girasol y soja. *Boletín Técnico* núm. 114. INTA EEA Balcarce

Anzalone, A. (2007). *Herbicidas inhibidores de la fotosíntesis*. *Herbicidas: Modos y mecanismos de acción en plantas*. Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado”. Caracas. Venezuela

Aparicio, V; De Gerónimo, E; Hernandez Guijarro, E; Perez, D; Portocarrero, R; Vidal, C. (2015). Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente. INTA Ediciones

Babaladimath, G., Vishalakshi, B. (2017). Silver nanoparticles embedded gum ghatti-graft-poly(N,N dimethylacrylamide) biodegradable hydrogel: evaluation as matrix for controlled release of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Journal Polym Res*. Vol. 24.

Bahadir, M., Pfister, G. (1990). *Controlled Release Formulations of Pesticides*. *Controlled Release, Biochemical Effects of Pesticides, Inhibition of Plant Pathogenic Fungi*. *Chemistry of Plant Protection*, Vol 6. Springer. Berlin, Heidelberg

Banks, P.A., Robinson, E.L. (1983). Activity of acetochlor, alachlor, and metolachlor as affected by straw. *Proc. South. Weed Sci. Soc.*, núm. 36: 394.

Barriuso, E., Benoit, P., Houot, S. (2000). Application of soil organic matter fractionation methods to the study of pesticide stabilization and bound residues formation in soils. In *Pesticide/Soil Interactions*. Ed. Cornejo, J., Jamet, P. Pp. 117-130

Bazzigalupi, O., Cepeda, S., Siciliani, C. (2001). Efecto de metsulfuron metil sobre el crecimiento de plántulas de soja en diferentes sustratos. *Revista de Tecnología Agropecuaria INTA Pergamino*

Bellé, C., Kulczynski, S. M., Basso, C. J., Edu Kaspary, T., Lamego, F. P. y Pinto, M. A. (2014). Yield and quality of wheat seeds as a function of desiccation stages and herbicides. *Journal of Seed Science*, 36:063-07

Bragachini, M., L. Bonetto, R., Bongiovanni, R., Herbener, N. (1995). Maíz: cosecha, secado y almacenaje. Cuaderno de actualización núm. 14. EEA INTA Manfredi. Córdoba

Camacho Morales, R.L., Gerardo, J.L., Guillen Navarro, K., Sanchez, J.E. (2017). Producción de enzimas ligninolíticas durante la degradación del herbicida paraquat por hongos de la pudrición blanca. Revista Argentina de Microbiología. Vol. 49. Pp.189-196

Cantarero M.G., Cirilo, A.G., Andrade, F.H. (1999). Night temperature at silking affects kernel set in maize. CropSci. núm. 39. Pp 703-710

Cao, L., Zhou, Z., Niu, S., Cao, C., Li, X., Shan, Y., Huang, Q. (2018). Positive-Charge Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles as Nanocarriers for Controlled 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid Sodium Salt Release. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 66. Pp. 6594-6503

Celis, R., Trigo, C., Facenda, G., Hermosín, M.D.C., Cornejo, J. (2007) Selective modification of clay minerals for the adsorption of herbicides widely used in olive groves. Journal Agriculture Food Chem. Vol. 55. Pp. 6650–6658

Cepeda, S.A., Bazzigalupi, O., Siciliani, C. (2001). Efecto de metsulfuron metil sobre el crecimiento de plántulas de maíz en diferentes sustratos. XIII. Congreso Nacional de Maíz. AIANBA, Pergamino

Costa, J.L. (1995). Transporte de solutos. Actas de la Reunión Nacional del Comité de Física de suelos de la Asociación Argentina de la Ciencia del suelo. Pp. 26-41. Paraná. Entre Ríos

Cotton Seed Distributors (CSD). (2018). Off-target Spray Drift - Managing Impacted Crops

Crouse, C.W. (2014). The use and effects of Agent Orange in Vietnam. Environmental Science Bites. Ohio State University

Da Cunha, J., Bellini, M.I., Pinelli, L., Fernandez-Scavino, A., Davyt, D. (2012). Determinación de atrazina e intermediarios de biodegradación en un medio de cultivo líquido para el de enriquecimiento de consorcios microbianos. Actas 7° Congreso de Medio Ambiente. Universidad Nacional de La Plata. Argentina

Dinis-Oliveira, R. J., Duarte, J.A., Sanchez-Navarro, A., Remiao, F., Bastos, M.L., Carvalho, F. (2008). Paraquat Poisonings: Mechanisms of Lung Toxicity, Clinical Features, and Treatment. Critical Reviews in Toxicology 38. Pp. 13–71

Dos Santos Silva, M., Sgarbi Cocenza, D., Grillo, R., Ferreira Silva de Melo, N., Tonelloa, P.S., Camargo de Oliveira, L., Lopes Cassimiro, D., Rosa, A.H., Fernandes Fraceto, L. (2011). Paraquat-loaded alginate/chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and soil sorption studies. Journal of Hazardous Materials. Vol. 190 Pp. 366–374

Duke, S., Dayan, F. (2001). Clasificación and mode of action of the herbicides. *Uso de Herbicidas en la Agricultura del Siglo XXI*. Ed. De Prado, R.; Jorrín, J. Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba. España

DuPont, Pioneer, (2015). Corn growth and development (Spanish version) Recuperado de https://www.pioneer.com/CMRoot/International/Latin_America_Central/Chile/Servicios/Informacion_tecnica/Corn_Growth_and_Development_Spanish_Version.pdf

Environmental Protection Agency (EPA) (2003). Interim Reregistration Eligibility Decision for Atrazine. Washington, D.C. United States

Evy, A.A., Melvin, S., Ramalingam, C. (2016). Application of rice husk nanosorbents containing 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide to control weeds and reduce leaching from soil. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. Pp. 1-9

Fernandez Perez, M., Flores Cespedes, F., Gonzalez Pradas, E., Villafranca Sanchez, M., Perez Garcia, S., Garrido Herrera, F.J. (2004). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 52. Pp. 3888-3893

Ferraguiti, F. (2014). Maíz en fechas tardías: una alternativa que llegó para quedarse. EEA INTA Oliveros. Recuperado de <https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-maz-segunda.pdf>

Ferraguti, F., Castellarin, J.M., Papa, J.C., Mendez, J.M., Cristos, D., Moschni, R. (2016). Determinación del momento óptimo de cosecha en maíz tardío. *Red de Innovadores. Revista Técnica de maíz*. Aapresid. Pp. 110-118

Franco Bodek, D., Castillo Blum, S.E. Ferredoxinas. (2013). *Educación química*. Universidad Nacional Autónoma de México. núm 24. Pp. 426-430

Ghaderpoori, M., Jafari, A., Nazari, E., Rashidipour, M., Nazari, A., Chehelcheraghi, F., Kamarehie, B., Rezaee, R. (2020). Preparation and characterization of loaded paraquat-polymeric chitosan/xantan/tripolyphosphate nanocapsules and evaluation for controlled release. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. Vol. 18. Pp. 1057-1066

Gilmore, E.C., Rogers, J.S. (1958). Heat Units as a Method of Measuring Maturity in Corn. *Agronomy Journal*, vol. 50, núm. 10, p. 611-615. College Station. Texas

Guegan, R. (2019). Organoclay applications and limits in the environment. *Comptes Rendus Chimie*. Vol. 22. Pp. 132-141

Gupta, P.K. (1989). Pesticide production and an overview. *Soil Pollution and Soil Organisms*. Ashish Publishing House, New Delhi, India, Pp. 1-16.

Gupta, P.K. (2017). Herbicides and fungicides. VIII. Pesticides, industrial and other environmental contaminants. Reproductive and Developmental toxicology. Elsevier Inc. All. Pp. 657-679

Gutierrez, H., Arregui, M. (2005). Comportamiento de Herbicidas en Suelos, Agua Plantas. Facultad de Ciencias Agrarias y Facultad de Ciencias Veterinarias (FAVE). Vol. 14, núm. 1. Pp. 73-89. Esperanza. Santa Fe. Argentina

Graymore, M., Stagnitti, F., Allinson, G. (2001). Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. Environment. Pp. 483-495

Grillo, R., Zocal Pereira dos Santos, N., Rodrigues Maruyamac, C., Rosa, A.H., De Lima, R., Fernandes Fraceto, L. (2012). Poly(ϵ -caprolactone)nanocapsules as carrier systems for herbicides: Physico-chemical characterization and genotoxicity evaluation. Journal of Hazardous Materials. Vol. 231– 232. Pp. 1-9

Grillo, R., Anderson, E.S., Pereira, Nishisaka, C.S., De Lima, R., Oehlked, K., Greinerd, R., Fraceto, L.F. (2014). Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: An environmentally safer alternative for weed control. Journal of Hazardous Materials. Vol. 278. Pp. 163–171

Grossmann, K., Kwiatkowski, J., Tresch, S. (2001). Auxin herbicides induce H₂O₂ overproduction and tissue damage in cleavers (*Gallium aparine* L.). Journal of Experimental Botany, núm 52. Pp. 1811-1816

Hang, S., Nassetta, M. (2003). Evolución de la degradación de atrazina en dos perfiles de suelo de la provincia de Córdoba. Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA). Vol. 32, núm. 1. Pp. 57--69 Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires, Argentina

Hayes, T.B., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A., Vonk, A. (2002). Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. Pp. 5476-5480

Hermosin, M.C., Calderon, M.J., Aguer, J.P., Cornejo, J. (2001). Organoclays for controlled release of the herbicide fenuron. Pest Management Science. Vol. 57. Pp. 803–809

Hermosin, M.C., Celis, R., Facenda, G., Carrizosa, M.J., Ortega-Calvo, J.J., Cornejo, J. (2006). Bioavailability of the herbicide 2,4-D formulated with organoclays. Soil Biology & Biochemistry. Vol. 38. Pp. 2117–2124

Hussein, M.Z., Yahaya, A.H., Zainal, Z., Kian, L.H. (2005). Nanocomposite-based controlled release formulation of an herbicide, 2,4-dichlorophenoxyacetate encapsulated in zinc–aluminium-layered double hydroxide. Science and Technology of Advanced Materials. Vol. 6. Pp. 956–962

International Agency for Research on Cancer (IARC). (2015). Carcinogenicity of lindane, DDT, and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Lyon. France

Ishizawa, C., Nakamatsu, J. (2002). Matrices Poliméricas para Liberación Controlada de Sustancias Activas. Revista De Química, Vol. 16. Pp. 13-23. Recuperado a partir de <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/18649>

Jacobsen, C.S., Pedersen, J.C. (1992). Mineralization of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in soil inoculated with *Pseudomonas cepacia* DBO1(pRO101), *Alcaligenes eutrophus* AEO106(pRO101) and *Alcaligenes eutrophus* JMP134(pJP4): effects of inoculation level and substrate concentration. Biodegradation- Vol. 2- Pp. 253–263

Jenks, B.M., Roeth, F.W., Martin, A.R., Mc Callister, D.L. (1998). Influence of Surface and Subsurface Soil Properties on Atrazine Sorption and Degradation. Weed Science. Vol. 46, núm. 1. Pp. 132-138. Cambridge University Press

Jordan, M., Casaretto, J. (2006). Hormonas y reguladores del crecimiento. Auxinas, Giberelinas y Citocininas. Fisiología Vegetal. Ediciones Universidad de La Serena. Chile

Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., Peppas, N.A. (1983) Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. International Journal of Pharmaceutics. Vol. 15. Pp. 25-35

Khandelwal N., Barbole R.S., Banerjee S.S., Chate G.P., Biradar A.V., Khandare J.J., Giri A.P. (2016). Budding trends in integrated pest management using advanced micro-and nano-materials: Challenges and perspectives. Journal Environmental Managment. Vol. 184. Pp. 157–169

Lagarde, H., Bedmar, F. (2003). Residualidad de herbicidas hormonales aplicados en barbechos cortos destinados a siembra de girasol o soja. Facultad de Ciencias Agrarias- UNMDP, C.C. 276, 7620 Balcarce

Lemos Delgado, A.C., Cordoba, A.M. (2015). Polihidroxialcanoatos (PHA) producidos por bacterias y su posible aplicación a nivel industrial. Informador Técnico (Colombia). Vol. 79. Núm 1. Pp. 93-101

Li, S., Crooks, P.A., Wei, X., De Leon, J. (2004). Toxicity of dipyridyl compounds and related compounds. Critical Reviews in Toxicology. Vol. 34. Pp. 447–460

Li, J., Yao, J., Li, Y., Shao, Y. (2012) Controlled release and retarded leaching of pesticides by encapsulating in carboxymethyl chitosan/bentonite composite gel. Journal Environmental Science Health. Vol. 47. Pp. 795–803

Lobo, F.A., Levy de Aguirre, C., Santos Silva, M., Grillo, R., Silva de Melo, F.N., De Oliveira, L.K., Cardoso de Moraes, L., Campos, V., Rosa, A.H., Fernandes Fraceto, L. (2011). Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) microspheres loaded with atrazine

herbicide: screening of conditions for preparation, physico-chemical characterization, and in vitro release studies. *Polym. Bull.* Vol. 67. Pp. 479–495

Mahía Saavedra, J. (2012). Dinámica de la atrazina y efectos de su aplicación en suelos agrícolas de Galicia

Mandelbaum, R., Allan, D., Wakett, W. (1995). Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 61, núm 4. Pp. 1451-1457

Martinez Alvarez, D. (2015). Ecofisiología del cultivo de maíz. El cultivo de maíz en San Luis. Ed. Garay, J.A., Colazo, J.C. Información Técnica N° 188, Pp. 7-32. INTA Ediciones. ISSN 0327-425X

Mondino, M. (2020). Daños del herbicida 2,4-D en el cultivo de algodón. EEA INTA Santiago del Estero

Muñoz Solarte, D.M., Guerrero Pepinosa, N. (2013). Allium test para evaluar el efecto citotóxico y genotóxico de extractos naturales en células meristemáticas de *Allium cepa*. *Memorias* Vol. 11. núm.19

Nielsen, R.L. (2019). Grain Fill Stages in Corn. *Corny News Network*. Agronomy Department. Purdue University. West Lafayette <https://www.agry.purdue.edu/ext/corn/news/timeless/GrainFill.html>

Pacácková, V., Štulík, K., Jiskra, J. (1996). High-performance separation in the determination of tri-azines herbicides and their residues. *J Chromatogr A*. 754. Pp. 17–31

Palmer, M.G. (2004). The legacy of agent orange: empirical evidence from central Vietnam. *Social Science and Medicine* núm, 60. Pp. 1061–1070

Panaggio, H. (2019). Residualidad y acumulación de herbicidas en el suelo. INIA La Estanzuela. Uruguay. http://www.inia.uy/Documentos/P%C3%BAblicos/INIA%20La%20Estanzuela/Actividades%202019/malezas_destacada/Panaggio_INTA.pdf

Papa, J.C. (25 de noviembre de 2017). Manejo y control de malezas en maíz. Las gramíneas anuales. *Agrositio Noticias*. Recuperado de <https://www.agrositio.com.ar/noticia/33401-manejo-y-control-de-malezas-en-maiz-las-gramineas-anuales>

Pereira, A. E. S., Grillo, R., Mello, N. F. S., Rosa, A. H., Fraceto, L. F., (2014) Application of poly(epsilon-caprolactone) nanoparticles containing atrazine herbicide as an alternative technique to control weeds and reduce damage to the environment. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 268. Pp. 207-215

Phuong, N.T.K., Ha, H.N.N., Dieu, N.T.P., Bui, T.H. (2017). Herbicide/Zn-Al-layered double hydroxide hybrid composite: synthesis and slow/controlled release properties. *Environ Sci Pollut Res*. Vol. 24- Pp. 19386–19392

Pinelli, L., Da Cunha, J., Bellini, M.I., Fernandez Scavino, A. (2012). Selección y caracterización de consorcios de bacterias como herramienta de biorremediación de la contaminación por atrazina en plantas potabilizadoras de agua. *Actas 7° Congreso de Medio Ambiente*. Universidad Nacional de La Plata. Argentina

Ponsa, J.C., Principiano, M. (2016). Malezas – Barbechos – Trigo. EEA Pergamino. INTA

Preisler, A.C., Pereira, A.E.S., Campos, V.R.E., Dalazen, G., Fraceto, L.F., Oliveira, H.C. (2020). Atrazine nanoencapsulation improves pre-emergence herbicidal activity against *Bidens pilosa* without enhancing long-term residual effect on *Glycine max*. *Journal Pest Managment Science*. Vol. 76. Pp. 141-149

Priyadarshi, S., Borse, B.B., Shukla, A. (2014). Polyhydroxyalkanoates: Role of *Ralstonia eutropha*. *International Journal of Biomedical And Advance Research*. Vol. 05

Rainero, H.P., Ustarroz, D., Pons, D. (2011). Persistencia de atrazina en el suelo y efectos fitotóxicos sobre el cultivo de soja. *Cartilla digital Manfredi*. núm 1. EEA Manfredi. INTA Ediciones

Rao, V.S. (2002). Traditional, Ecophysiological and other approaches in weed managment. *Principles of Weed Science Second Edition*. CRC Press. Boca Raton U.S.A. Pp. 37-55

Rashidipour, M., Maleki, A., Kordi, S., Birjandi, M., Pajouhi, N., Mohammadi, E., Heydari, R., Rezaee, R., Rasouljan, B., Davar, B. (2019). Pectin/Chitosan/Tripolyphosphate Nanoparticles: Efficient Carriers for Reducing Soil Sorption, Cytotoxicity, and Mutagenicity of Paraquat and Enhancing Its Herbicide Activity

Ritchie, S. W., Hanway, J.J., Benson, G.O. (1996). How a Corn Plant Develops. *Iowa State University Cooperative Extension Special Report No. 48*

Rivera Briso, A., Serrano Aroca, A. (2018). Métodos de refuerzo mecánico del poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) para aplicaciones industriales avanzadas. *Nereis. Revista Iberoamericana Interdisciplinaria de Métodos, Modelización y Simulación*. Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir. Valencia. España

Rossi, A.R., Cepeda, S., Ponsa, J.C. (2012). Malezas: su manejo y control. Pp. 205-217. *Bases para el manejo del cultivo de maíz*. EEA INTA Pergamino. INTA Ediciones. ISBN: 978-987-679-141-0

Sadras, V.O., Ferreiro, M., Gutheim, F., y Kantolic, A.G. (2002). Desarrollo fenológico y su respuesta a temperatura y fotoperíodo. Pp 25-56. Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja. Tercera Edición. ISBN 987-521-047-1

Salisbury, F.B., Ross, C.W. (2000). Fisiología de las Plantas. Desarrollo de las plantas y Fisiología ambiental. Ed Paraninfo. Madrid. España

Sanchez Verdejo, T., Undabeytia, T., Nir, S., Villaverde, J., Maqueda, C., Morillo, E. (2008). Journal of Agriculture and Food Chemistry. Vol. 56. Pp. 10192-10199

Sandoval, P.A., Baena, Y., Aragón, M., Rosas, J.E., Ponce D' Leon, L.F. (2008). Mecanismos generales de cesión de principios activos a partir de matrices monolíticas hidrofílicas preparadas con éteres de celulosa. Revista Colombiana de Ciencias Químicas y Farm. Vol. 37 Pp. 105-121

Schreiber M.M., Hickman, M.V., Vail, G.D. (1993). Starch-encapsulated atrazine. Efficacy and transport. Journal Environmental Qual. Vol. 22. Pp. 443–453

Schwartz, M.D. (1999). Advancing to full bloom: planning phenological research for the 21st century. International Journal of Biometeorology. vol 42. Pp. 113-118

Sendil, D., Gursel, I., Wise, D.L., Hasircia, V. (1999) Antibiotic release from biodegradable PHBV microparticles. Journal Controlled Release. Vol. 59. Pp. 207–217

Serbent, M.P., Martinez Rebelo, A., Pinheiro, A., Giongo, A., Ballod Tavarez, L. (2019). Biological agents for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide degradation. Applied Microbiology and Biotechnology. Vol.103. Pp. 5065–5078

Sharma, P., Rohilla, D., Chaudhary, S., Kumar, R., Singhc, A.N. (2019). Nanosorbent of hydroxyapatite for atrazine: A new approach for combating agricultural runoffs. Science of the total environmet. Vol. 653. Pp. 264-273

Shirvani. M., Farajollahi, E., Bakhtiari, S., Oladele Ogunseitan, A. (2014). Mobility and efficacy of 2,4-D herbicide from slow release delivery systems based on organo-zeolite and organo-bentonite complexes. Journal of Environmental Science and Health, Pp. 255-262

Smith, J.G. (1988). Paraquat poisoning by skin absorption: a review. Human Toxicology Vol. 7. Pp. 15–19

Song, F., Wang, J., Zhang, L., Chen, Q., Wang, Y., Ke. N., Haibo, X. (2020). Coumarin-Containing Light-Responsive Carboxymethyl Chitosan Micelles as Nanocarriers for Controlled Release of Pesticide. Polymers

Sonon, L.S. (1992). Persistence and transport of atrazine, alachlor and nitrate in soils. PhD thesis, Department of Agronomy., Kansas State University, Manhattan, Kansas

Sopeña, F., Maqueda, C., Morillo, E. (2009). Controlled release formulations of herbicides based on micro-encapsulation. *Ciencia e Investigación Agraria*. Vol. 35, Núm. 1. Pp. 27-42

Sorenson, B.A., Koskinen, W.C., Buhler, D.D., Wyse, D.L., Lueschen, W.E., Jorgenson, M.D. (1994). Formation and movement of ¹⁴C atrazine degradation products in a clay loam soil in the field. *Weed Science*. Vol. 42. Pp. 618-624

Spectral Database for Organic Compounds (SDBS). <https://sdb.sdb.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, acceso: 30-09-2020)

Sposito, G. (2008). *Soil Adsorption Phenomena. The chemistry of soils*. Oxford University Press, New York

Sterling, T.M. (1994). Mechanism of herbicide absorption across plant membranes and accumulation in plant cells. *Weed Science*, núm 42. Pp. 263-276

Sterling, T. M., Hall, J. C. (1997). Mechanism of action of natural auxins and the auxinic herbicides. In: Roe RM, et al., editors. *Herbicide Activity: Toxicology, Biochemistry and Molecular Biology*. Amsterdam: IOS Press. Pp. 111–141

Stibal, M., Baelum, J., Holben, W.E., Sorensen, S.R., Jensen, A., Jacobsen, C.S. (2012). Microbial degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the Greenland ice sheet. *Appl Environ Microbiol*. Vol. 78. Pp. 5070–5076

Stork, P.R. (1998). Bioefficacy and leaching of controlled release formulations of triazine herbicides. *Weed Res*. Vol. 38. Pp. 433-441

Tuyet Nham, L.T., Johansson, A. (2001). Impact of chemical warfare with agent orange on women's reproductive lives in Vietnam: A pilot study. *Reproductive Health Matters*. núm 9. Pp. 156-164.

Vicari, A.P., Catizone, P., Zimdhal, R.L. (1994). Persistence and mobility of chlorsulfuron and metsulfuron under different soil and climatic conditions. *Weed Research*, núm. 34, Pp. 147 – 155

Wen-Tien, T. (2013). A review on environmental exposure and health risks of herbicide paraquat. *Toxicological & Environmental Chemistry*. Vol. 95. Núm 2. Pp. 197-206

Wicks, G.A., Crutchfield, D.A., Bumside, O.C. (1994). Influence of Wheat (*Triticum aestivum*) straw mulch and metolachlor on corn (*Zea mays*) growth and yield. *Weed Sci.*, núm 42, Pp 141 – 147

Wu, X., Wang, W., Liu, J., Pan, D., Tu, X., Lv, P., Wang, Y., Cao, H., Wang, Y., Hua, R. (2017). Rapid biodegradation of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by *Cupriavidus gilardii*. *Agric Food Chem*. Vol. 65. Pp. 3711–3720

Xiang, Z., Haixin, C., Yan, W., Changjiao, S., Bo, C., Zhanghua, Z. (2018). Development Strategies and Prospects of Nano-based Smart Pesticide Formulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 66 (26). Pp. 6504-6512

Yang, C., Li, Y., Zhang, K., Wang, X., Ma, C., Tang, H., Xu, P. (2010). Atrazine degradation by a simple consortium of *Klebsiella* sp. A1 and *Comamonas* sp. A2 in nitrogen enriched medium. *Biodegradation*, Vol. 21. Pp. 97-105

Yue, S., Huaxin, Z., Yan, W., Haixin, C., Runcang, S. Applications and Implications of Environmental – Responsive Polymers toward Agrochemicals. *Polymers for Agri-Food Applications*. Springer Nature Switzerland

Zimdahl, R.L. (1992). *Fundamentals of Weed Science*. Academic Press Inc. eds. 450 p

8. ANEXO

8.1 Presentación elaborada para la defensa de la Tesis



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BUENOS AIRES - ITBA
ESCUELA DE TECNOLOGÍA

**EL CONTROL DE MALEZAS EN EL CULTIVO DE ZEA MAYS
ENCAPSULAMIENTO Y ADSORCIÓN DE LOS HERBICIDAS PARA DISMINUIR EL
IMPACTO AMBIENTAL NEGATIVO DERIVADO DE SU APLICACIÓN. AVANCES EN
EL DESARROLLO DE FORMULACIONES DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE
ATRAZINA, PARAQUAT Y 2,4-D**

AUTOR: Vignolo, Patricia Julieta (Leg. N° 103720)
DIRECTOR: Errea, María Inés

Tesis presentada para la obtención del título de Magister en Gestión Ambiental - Buenos Aires 2021

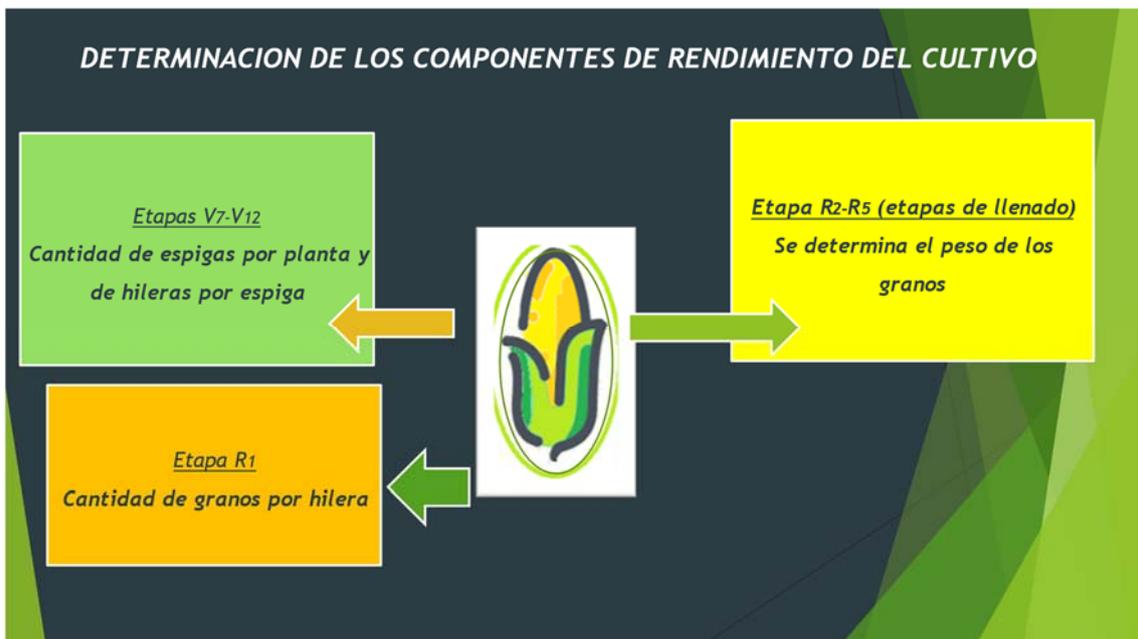
EL CULTIVO DE MAÍZ EN LA ARGENTINA



En la campaña 2019/20, ocupó el segundo lugar después de la soja, con una superficie sembrada de 6,3 millones de ha, y una producción de 50 millones de tn

En la Argentina, el 80% de la producción se concentra en la "zona núcleo maicera"

Es un cereal de ciclo anual perteneciente a la familia Gramíneas



PRINCIPALES FACTORES MEDIOAMBIENTALES QUE AFECTAN EL DESARROLLO Y EL RENDIMIENTO

TEMPERATURA



10° C-30° C

FOTOPERÍODO



Especie de días cortos.
Umbral fotoperiódico
12-13 horas

HUMEDAD



Estrés hídrico
Especialmente
crítico en las
etapas VT y R1

MALEZAS



LAS MALEZAS

DEFINICIÓN

Las malezas pueden definirse como plantas presentes de manera indeseable en un contexto de lugar y tiempo determinado

En general se encuentran altamente adaptadas al entorno, y presentan un elevado poder germinativo y un alto grado de dispersión



Compiten con los cultivos por luz, agua y nutrientes, y son además hospederas de plagas y enfermedades

PÉRDIDAS OCASIONADAS

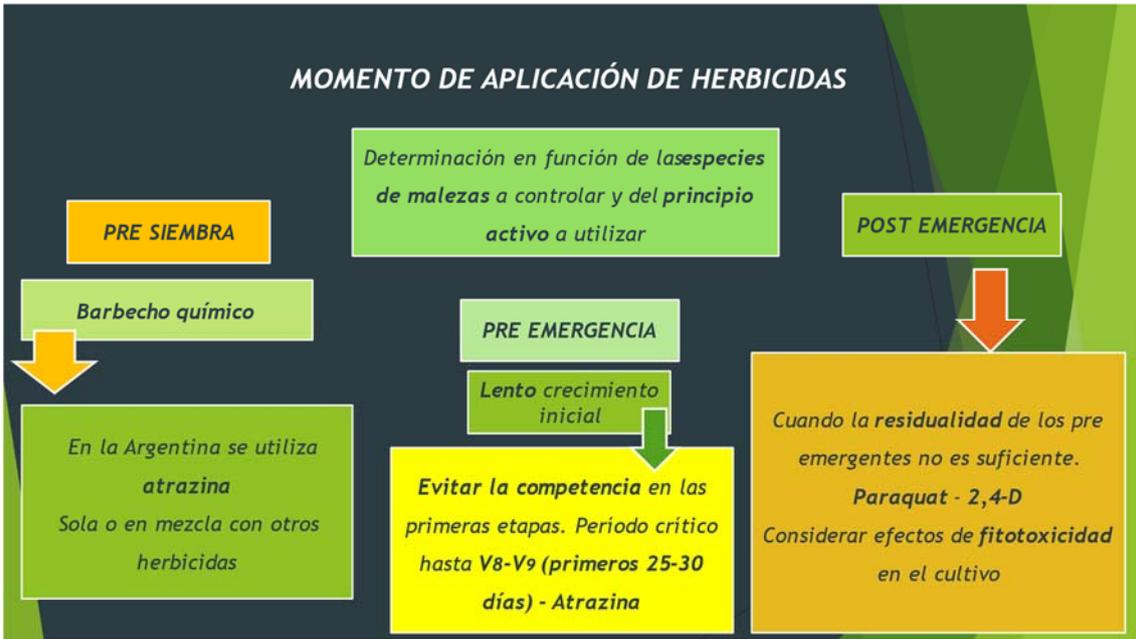
Las pérdidas ocasionadas pueden ser directas (competencia o alelopatía) o indirectas (interferencia en la cosecha) En la zona núcleo las pérdidas directas representan entre el 10-15% del rendimiento, y las indirectas el 3%

PRINCIPALES ESPECIES DE MALEZAS EN LA ZONA NÚCLEO MAICERA



MÉTODOS DE CONTROL DE MALEZAS





HERBICIDAS SELECCIONADOS PARA SER ANALIZADOS EN ESTE TRABAJO DE TESIS

ATRAZINA

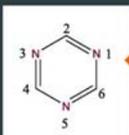
PARAQUAT

2,4-D

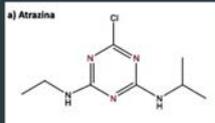
FAMILIAS QUÍMICAS DE LOS HERBICIDAS SELECCIONADOS

TRIAZINAS

Poseen un anillo heterocíclico aromático similar al benceno. De los isómeros la principal es la 1,3,5-triazina (*s*-triazina)



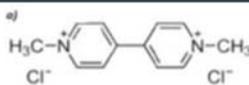
ATRAZINA



BIPIRIDIOS

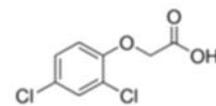
Son sales de amonio (4,4'-bipiridinio)

PARAQUAT

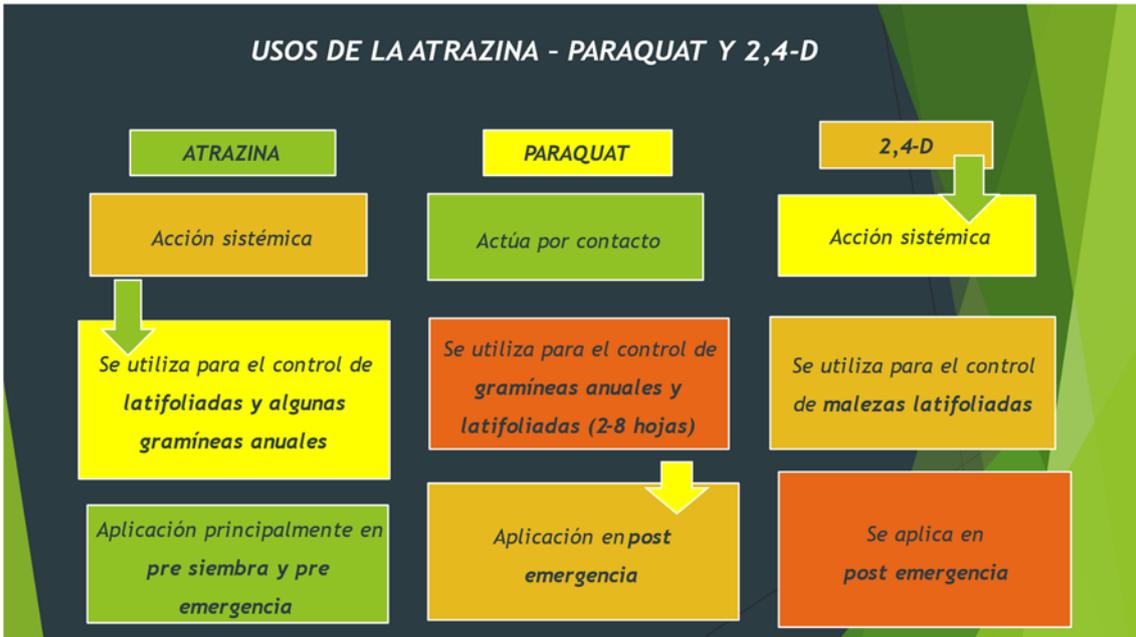


ÁCIDOS FENOXICARBOXÍLICOS

2,4-D (2,4-diclorofenoxi)acético)



USOS DE LA ATRAZINA - PARAQUAT Y 2,4-D



HERBICIDAS AGREGADOS AL SUELO



PROCESOS DE RETENCIÓN, TRANSPORTE y DEGRADACIÓN DE LOS HERBICIDAS EN EL SUELO

RETENCIÓN

Procesos físicos, sin cambios en la naturaleza química de la molécula

Incluye los procesos de adsorción y desorción. Importancia en relación a la disponibilidad del herbicida

Relacionados con el contenido de Materia orgánica y arcillas

TRANSPORTE

Dos tipos fundamentales escurrimiento y lixiviación

La lixiviación aumenta el riesgo de contaminación de las napas subterráneas.

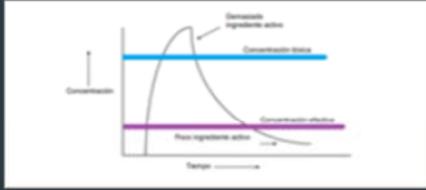
DEGRADACIÓN

Puede ser química o biológica. La principal es la degradación biológica

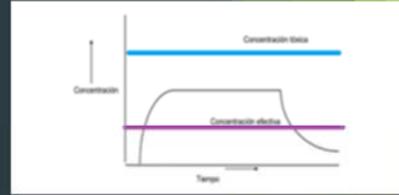


NUEVAS TECNOLOGÍAS EN LA FORMULACIÓN DE HERBICIDAS

FORMULACIONES CONVENCIONALES



FORMULACIONES DE LIBERACIÓN CONTROLADA



Tienen como objetivos-
mantener el umbral de
concentración - protección del
principio activo - liberación a
una velocidad adecuada

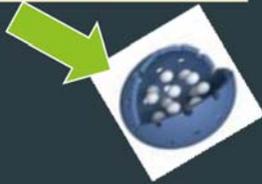
Con la liberación gradual al
disminuir el tiempo de
exposición, disminuye la
degradación y la necesidad
de sobredosificar

FORMULACIONES DE LIBERACIÓN CONTROLADA

Se basan en el encapsulamiento o la adsorción del principio activo

ENCAPSULAMIENTO

Es un proceso por el cual el principio activo queda contenido en el interior de un material (cubierta o coraza)

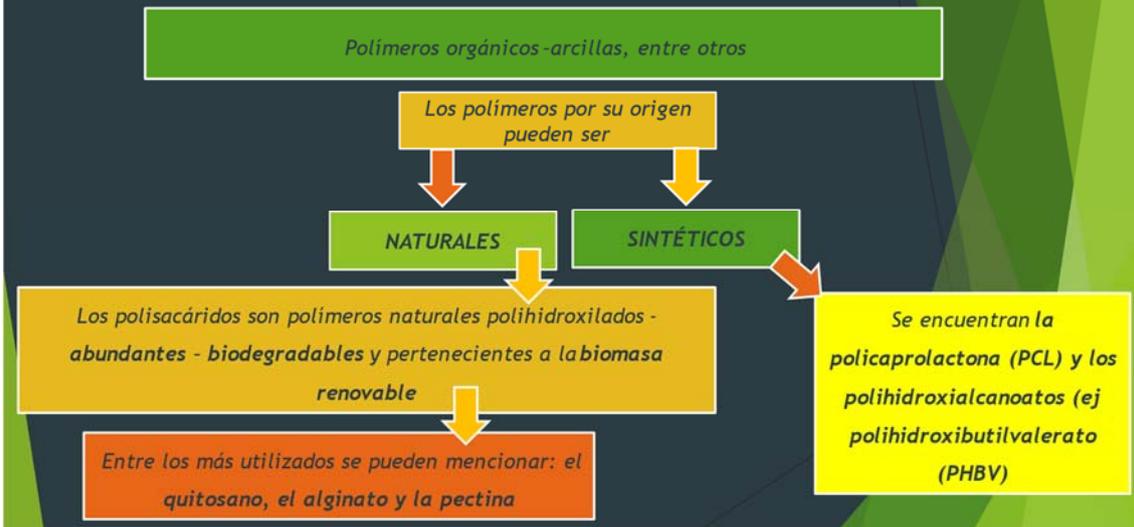


ADSORCIÓN

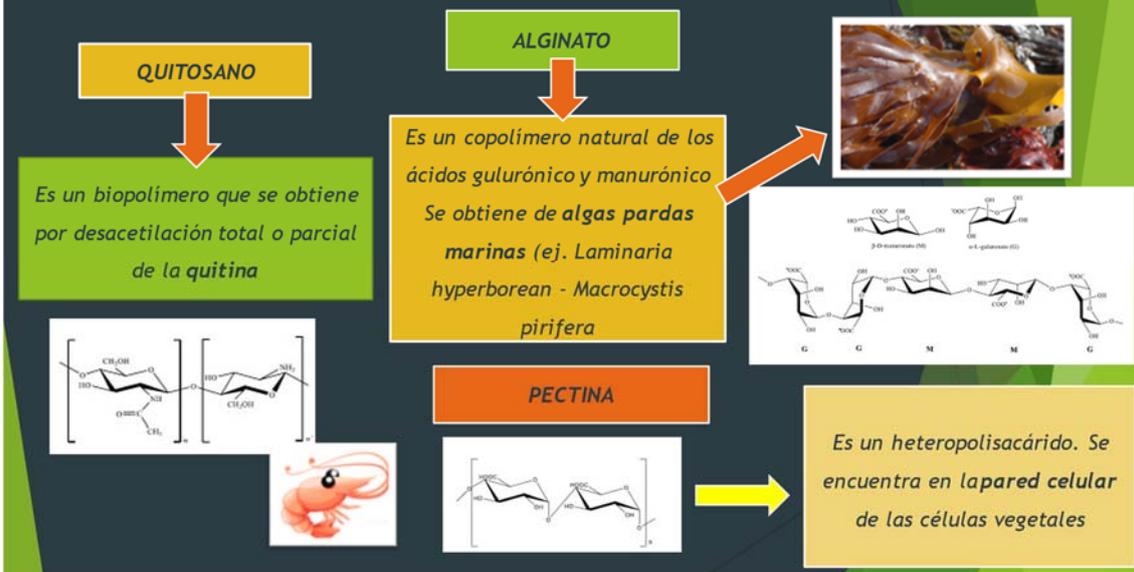
Consiste en la retención del principio activo sobre la superficie de una fase sólida

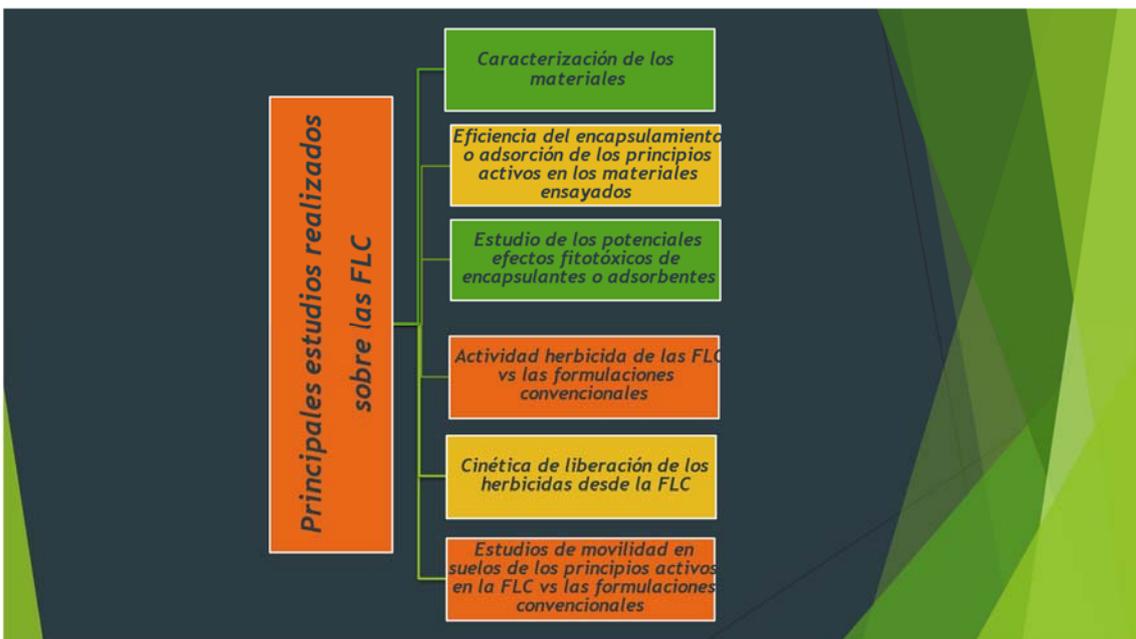


ENCAPSULAMIENTO DE HERBICIDAS - MATERIALES UTILIZADOS



POLISACÁRIDOS COMO CUBIERTA EN FORMULACIONES DE LIBERACIÓN CONTROLADA





ESTUDIOS RELACIONADOS CON LA ACTIVIDAD HERBICIDA

De las malezas habituales de los cultivos de maíz de la zona núcleo, *Brassica sp.*, una maleza latifoliada, fue la que se utilizó para las pruebas de actividad herbicida en los trabajos analizados

Se realizaron también algunos estudios sobre *Trifolium repens*, *Cucumis sativus*, *Bidens pilosa* y *Setaria viridis*, que no tan comunes en la zona núcleo, pero que sirven de referencia.



Se evaluó
La mortalidad
La longitud de las plántulas
El peso seco
La inhibición de la germinación



En algunos casos se evaluó también el efecto fitotóxico de las FLC sobre los cultivos de maíz

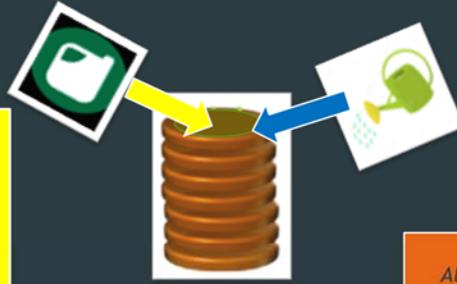
ESTUDIOS RELACIONADOS CON LA CINÉTICA DE LIBERACIÓN



ESTUDIOS RELACIONADOS CON LA MOVILIDAD EN SUELOS

LIXIVIACIÓN

El objetivo es comparar el nivel de lixiviación de la FLC con el de la comercial. Se utilizaron columnas de suelo generalmente divididas en anillos para segmentar las diferentes profundidades



En la parte superior de la misma se agregan las formulaciones a evaluar del herbicida y, a intervalos de tiempo determinados, se incorpora agua desde la parte superior emulando la precipitación

Al finalizar el ensayo se determina la concentración del principio activo en función de la profundidad

ATRAZINA - RESULTADOS OBTENIDOS

ENCAPSULAMIENTO CON PCL

Brassica sp

Actividad Herbicida

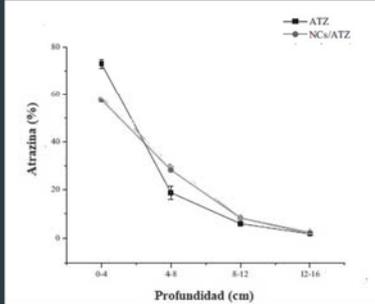


Control, NCs (nano capsulas), NCs/ATZ (nano capsulas c/atrazina, ATZ (atrazina comercial)

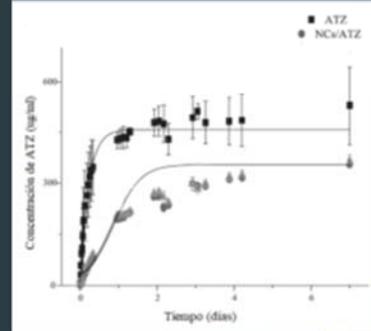
ATRAZINA - RESULTADOS OBTENIDOS

ENCAPSULAMIENTO CON PCL

Movilidad en suelos



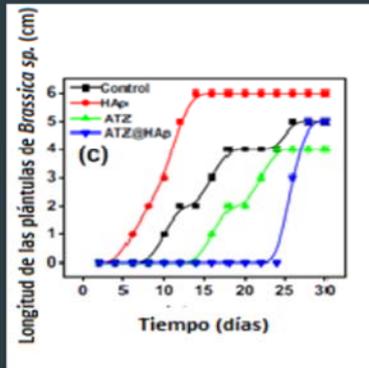
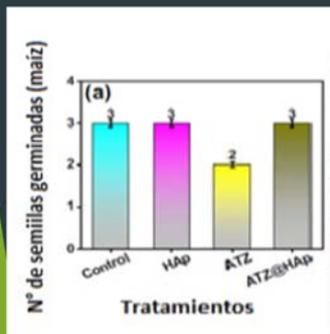
Cinética de Liberación



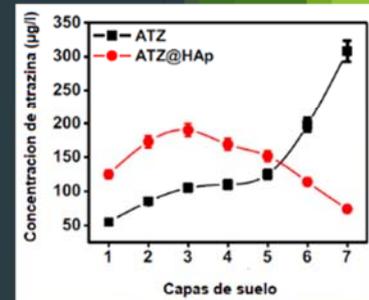
ATRAZINA - RESULTADOS OBTENIDOS

ADSORCIÓN SOBRE HIDROXIAPATITA - HAp

Actividad Herbicida



Movilidad en suelos



Control, HAp (partículas de hidroxiapatita), ATZ (formulación comercial), ATZ -HAp (formulación de liberación controlada)

ATRAZINA - RESULTADOS OBTENIDOS

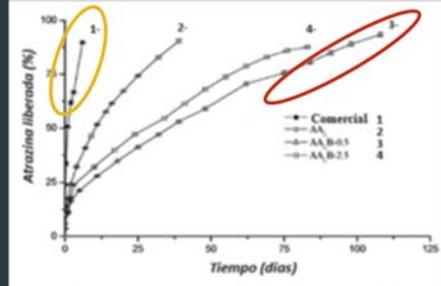
ADSORCIÓN SOBRE ORGANO BENTONITAS Y ENCAPSULAMIENTO EN GRÁNULOS DE ALGINATO

Actividad Herbicida
Movilidad en suelos



No fueron evaluados debido a que el objetivo principal del trabajo era evaluar como la incorporación de lasorgano bentonitas afectaba la liberación

Cinética de Liberación



Comercial, AAL, AALB-05, AALB-2,5

Se evaluó en agua.
Con la incorporación de lasorgano bentonitas, la liberación del 93,43% de la atrazina se produjo a los 108 días (AALB-05)

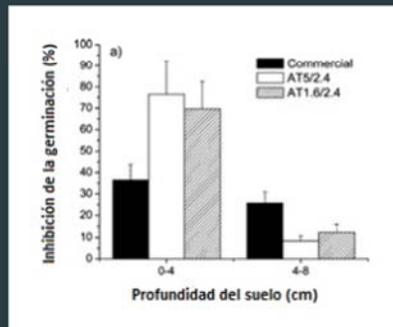
ATRAZINA - RESULTADOS OBTENIDOS

ENCAPSULAMIENTO EN VESÍCULAS DE FOSFATIDILCOLINA Y ADSORCIÓN EN MONTMORILIONITA

Actividad Herbicida

Movilidad en suelos

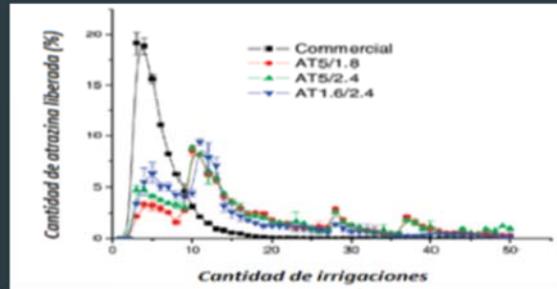
Setaria viridis



ATRAZINA - RESULTADOS OBTENIDOS

ENCAPSULAMIENTO EN VESÍCULAS DE FOSFATIDILCOLINA Y ADSORCIÓN EN MONTMORILIONITA

Cinética de Liberación

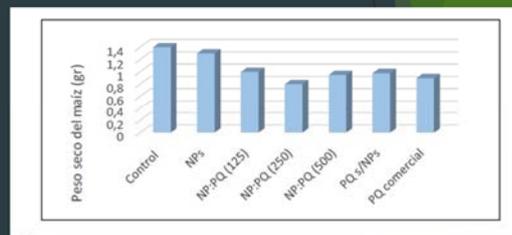
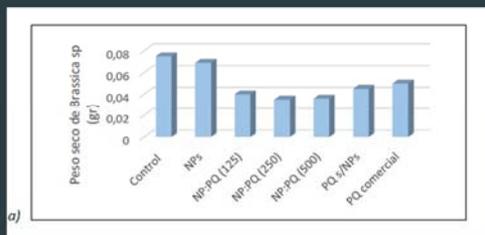


Se evaluó la cinética de liberación en suelo

PARAQUAT - RESULTADOS OBTENIDOS

ENCAPSULAMIENTO EN PARTÍCULAS DE QUITOSANO/TPP/PECTINA

Actividad Herbicida



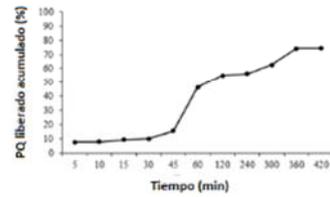
PARAQUAT - RESULTADOS OBTENIDOS

ENCAPSULAMIENTO EN PARTÍCULAS DE QUITOSANO/TPP/PECTINA

Movilidad en suelos

La FLC presento un menor nivel de lixiviación, concentrándose en los primeros 5 cm de profundidad

Cinética de Liberación

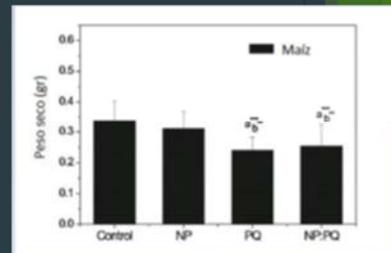
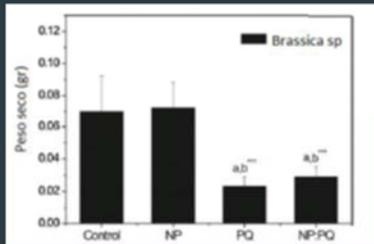


En este caso no se informo la curva de liberación de la formulación comercial del herbicida

PARAQUAT - RESULTADOS OBTENIDOS

PARTÍCULAS DE QUITOSANO/TPP

Actividad Herbicida

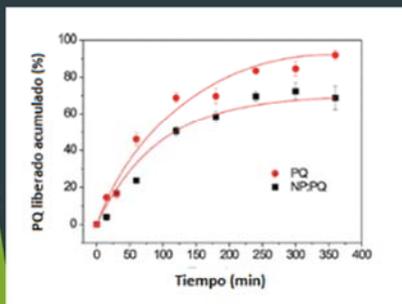


A)Control, B) partículas s/PQ, (NP), C) PQ comercial (PQ),D) PQ encapsulado (NP:PQ)

PARAQUAT - RESULTADOS OBTENIDOS

PARTÍCULAS DE QUITOSANO/TPP

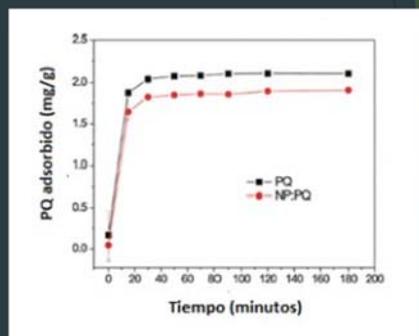
Cinética de Liberación



Se evaluó la cinética de liberación en agua

Movilidad en suelos

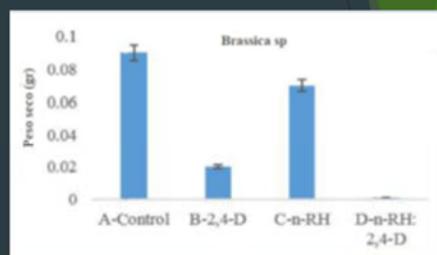
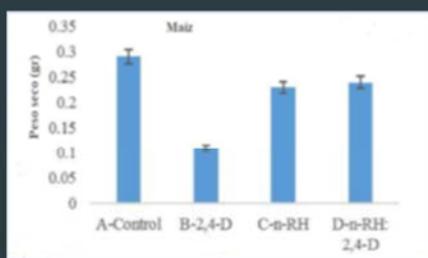
En este trabajo en lugar de evaluar la lixiviación en el suelo, se evaluó la adsorción del principio activo en el mismo



2,4-D - RESULTADOS OBTENIDOS

ADSORCIÓN EN CÁSCARAS DE ARROZ

Actividad Herbicida

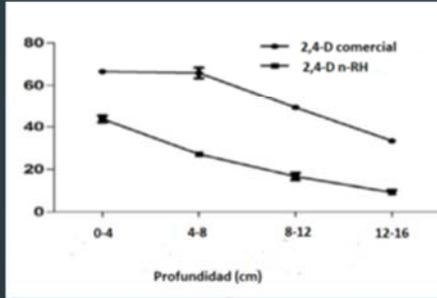


A) Control - B) Formulación comercial - C) Cáscaras sin herbicida - D) FLC

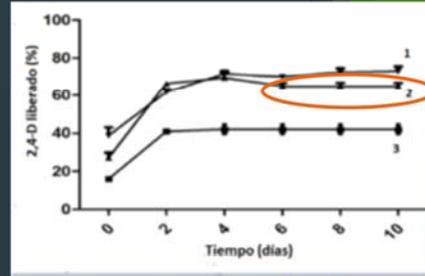
2,4-D - RESULTADOS OBTENIDOS

ADSORCIÓN EN CÁSCARAS DE ARROZ

Movilidad en suelos



Cinética de Liberación



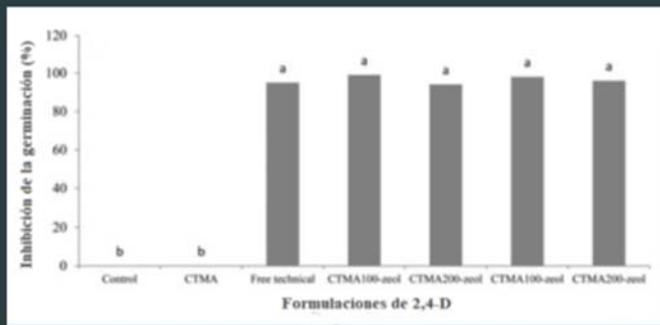
La liberación se mantuvo constante durante un período de 6 días

2,4-D - RESULTADOS OBTENIDOS

ADSORCIÓN EN ORGANO BENTONITAS Y ORGANO ZEOLITAS

Actividad Herbicida

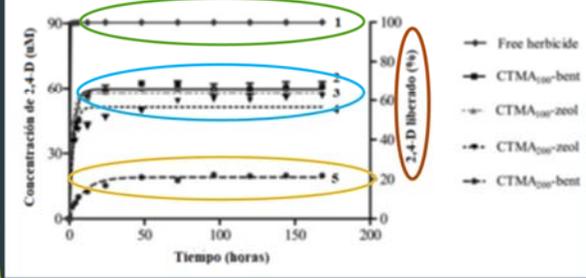
Trifolium repens



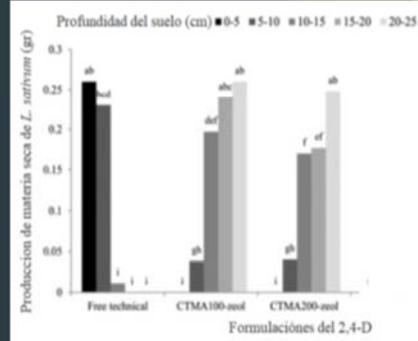
2,4-D - RESULTADOS OBTENIDOS

ADSORCIÓN EN ORGANO BENTONITAS Y ORGANO ZEOLITAS

Cinética de Liberación



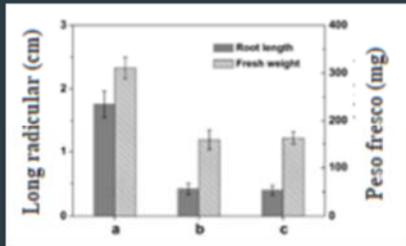
Movilidad en suelos



2,4-D - RESULTADOS OBTENIDOS

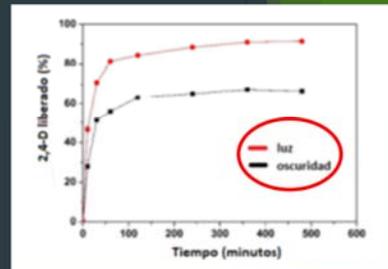
ENCAPSULAMIENTO EN BIOPOLÍMERO "INTELIGENTE" DE CARBOXIMETILQUITOSANO Y DIETILAMINA CUMARINA

Actividad Herbicida



a) Control - b) Formulación comercial - c) FLC

Cinética de Liberación



En respuesta a la irradiación, el 90% del herbicida se liberó a los 500 minutos.
En oscuridad se liberó el 65%

CONCLUSIONES

- ✓ *El encapsulamiento y la adsorción no afectaron los principios activos, dado que los niveles de control obtenido mediante las FLC fueron similares o superiores al de la formulación comercial*
- ✓ *Los materiales evaluados permitieron lograr una liberación gradual del principio activo*
- ✓ *Las FLC mostraron un menor nivel de lixiviación, lo cual es una ventaja dado que reduce la potencial contaminación de las napas subterráneas*
- ✓ *El cultivo de maíz no se vio afectado por la aplicación de las FLC en los casos en los que se realizó esta evaluación*
- ✓ *Dado que las evaluaciones fueron efectuadas bajo condiciones de laboratorio, faltaría realizar estudios en condiciones naturales para analizar el efecto de las variaciones ambientales en el comportamiento de los herbicidas*

MUCHAS GRACIAS