

## Efecto de Análogos de Bromoxinil en Cultivo de Frijol

Artemisa Romero Martínez,<sup>1\*</sup> Guillermo A. James Molina<sup>1</sup> y Martha Albores Velasco<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco.

Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Coyoacán 04960, México, D. F., Tel. 5483-7259, Fax 5483-7237.  
gjamesmolina@yahoo.com.mx.

<sup>2</sup> División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510, México, D. F.

**Resumen.** Se describe el procedimiento y resultados de las pruebas biológicas *in vivo* de siete sustancias químicas sintetizadas como análogos del herbicida Bromoxinil, fenol dibromado que actúa en el fotosistema II. Los análogos 2,6-dibromo-4-trifluorometilfenol, 2,6-dibromo-4-nitrofenol, 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído, 3,5-dibromo-4-hidroxibencensulfonamida, ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoico, 2,6-dibromo-4-[1,3]ditian-2-il-fenol, y 2-ciano-3-(3,5-dibromo-4-hidroxifenil)acril-amida se aplicaron sobre las hojas de plantas de frijol. Uno de ellos no presentó actividad; otro produjo un daño similar al del herbicida comercial Bromoxinil. Los otros presentaron un efecto de moderado a leve.

**Palabras clave:** Bromoxinil, herbicida, fotosistema II, fenoles dibromados, pruebas *in vivo*.

Las hierbas se consideran una plaga cuando crecen en los lugares donde obstaculizan las actividades que desarrolla el hombre, ya sea en pastizales, agostaderos, bosques, carreteras, etc., pero sobre todo en los cultivos, pues debido a ellas la producción de los alimentos disminuye drásticamente [1-3]. Una de las motivaciones que ha llevado a los investigadores a desarrollar nuevas sustancias cuya actividad, selectividad y seguridad ambiental proporcionen el auxilio adecuado a los agricultores, es la necesidad de incrementar la producción de alimentos. La búsqueda para combatir las hierbas, ha orillado a los científicos a probar herbicidas mejorados y otros métodos de protección [1-4].

Durante los últimos 50 años se han desarrollado varias clases de herbicidas efectivos para controlar a muchas plantas. Más de la mitad de ellos inhiben el transporte de electrones afectando la actividad fotosintetizadora de las plantas, lo cual les confiere un papel relevante en la protección de los cultivos y por ello son ampliamente utilizados en el mundo. Ejemplo de ellos son el Diurón, Dinoseb, Linurón, Atrazina, Cipromid, y otros [3-7].

Hoy en día es necesaria la búsqueda de nuevos métodos de control de malezas. Este tipo de sustancias son de las más estudiadas y el aprovechamiento de sus propiedades tales como su baja toxicidad en los mamíferos, su alta actividad herbicida, bajas concentraciones de aplicación y la tolerancia de cultivos, podrían ayudar en ese sentido [3-7].

Los herbicidas de tipo fenólico como el Bromoxinil, también son inhibidores del transporte de electrones. Esta sustancia contiene en su estructura un grupo OH, grupos NO<sub>2</sub>, CN y/o halógenos y se ha propuesto que su actividad debe a sus características de coeficiente de reparto y a la acidez aumentada por grupos que atraen los electrones [6, 8]. Los análogos

**Abstract.** The procedure and results of the *in vivo* biological tests of seven substances synthesized as analogous of the herbicide Bromoxynil, a dibromophenol that acts in photosystem II are described. 2,6-dibromo-4-trifluoromethylphenol, 2,6-dibromo-4-nitrophenol, 3,5-dibromo-4-hydroxybenzaldehyde, 3,5-dibromo-4-hydroxybenzenesulfonamide, 3,5-dibromo-4-hydroxybenzoic acid, 2,6-dibromo-4-[1,3]dithian-2-yl-phenol, and 2-cyano-3-(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)acryl-amide were applied on the leaves of bean plants. One of them did not display activity; another produced a similar activity to that of the commercial herbicide Bromoxynil. The others presented moderate to slight effect.

**Key words:** Bromoxynil, herbicide, photosystem II, dibromophenols, *in vivo* test.

del Bromoxinil podrían presentar tales características, ya que este herbicida actúa a nivel del Fotosistema II.

Cuando se trabaja en la síntesis de nuevos herbicidas, siempre se trata de buscar la selectividad de éstos, es decir, que dañen a las malas hierbas pero no a los cultivos [6, 7]. Tal característica es difícil de lograr, sin embargo, los investigadores efectúan experimentos que auxilien en la determinación de la toxicidad o no de tales sustancias, al aplicarlas al follaje de malezas, algas, plantas cultivadas u organelos [6-14].

Debido a la importancia que tienen los herbicidas en el campo agrícola, en el presente trabajo se realizaron pruebas biológicas en invernadero, de sustancias químicas análogas del Bromoxinil, herbicida comercial que actúa en el proceso fotosintético. El objetivo del trabajo es probar la actividad de los análogos sobre la fotosíntesis y comparar su actividad con el compuesto comercial, para lo cual se utilizaron plantas de frijol dada la facilidad para establecer el cultivo y la alta producción de clorofila en sus hojas.

### Resultados y discusión

Los 2,6-dibromo-4-trifluorometilfenol (**1**), 2,6-dibromo-4-nitrofenol (**2**), 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído (**3**), 3,5-dibromo-4-hidroxibenzonitrilo (**4**) (Bromoxinil), 3,5-dibromo-4-hidroxibencensulfonamida (**5**), ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoico (**6**), 2,6-dibromo-4-[1,3]ditian-2-il-fenol (**7**) y 2-ciano-3-(3,5-dibromo-4-hidroxifenil)-acrilamida (**8**) (figura 1), se sintetizaron y se determinaron sus propiedades físicas (Tabla 1) y espectroscópicas, las cuales concuerdan con las informadas en la literatura [8, 15]

**Tabla 1.** Constantes físicas de los análogos de Bromoxinil.

Nombre	p. f. (°C)	p. f. (°C), [lit.]
(1) 2,6-dibromo-4-trifluorometilfenol	54-55	50-50.5 [15]
(2) 2,6-dibromo-4-nitrofenol	147-148	139-140 [8]
(3) 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído	186-187	180-181 [8]
(4) 3,5-dibromo-4-hidroxibenzonitrilo	191-193	188-192 [24]
(5) 3,5-dibromo-4-hidroxibencensulfonamida	228-229	228-229 [18]
(6) ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoico	265-266	266-7 [23]
(7) 2,6-dibromo-4-[1,3]ditian-2-il-fenol	155-157*	133-134 [8]
(8) 2-ciano-3-(3,5-dibromo-4-hidroxifenil)-acrilamida	233-237	239 [8]

\* Estructura corroborada por sus características espectroscópicas.

En la tabla 2 se aprecia el daño causado a las plantas de frijol con los diferentes tratamientos. Los porcentajes de mortandad se asignaron de acuerdo al número de plantas muertas, por ejemplo, cada una de las macetas tenía 4 plantas, si con alguno de los tratamientos todas murieron, le corresponde una mortandad del 100%, si murieron solamente 3, será el 75% y así respectivamente.

En el transcurso de 17 días de aplicación de las sustancias a las diferentes concentraciones, se observó lo siguiente:

El 2,6-dibromo-4-trifluorometilfenol (**1**) a la concentración  $10^{-4}$  M provocó cambio en la coloración de las hojas de verde a amarillo o café; a las concentraciones  $10^{-3}$  y  $10^{-2}$  M se murieron todas las plantas.

Con el compuesto 2,6-dibromo-4-nitrofenol (**2**) a la concentración  $10^{-4}$  M durante los primeros días se observaron hojas con los bordes ligeramente secos y algunas manchas amarillas; a la concentración  $10^{-3}$  las plantas presentaron algunas hojas secas y las otras con daño aparente; a la concentración más alta todas las plantas murieron. Al finalizar el experimento todas las plantas de todos los tratamientos habían muerto.

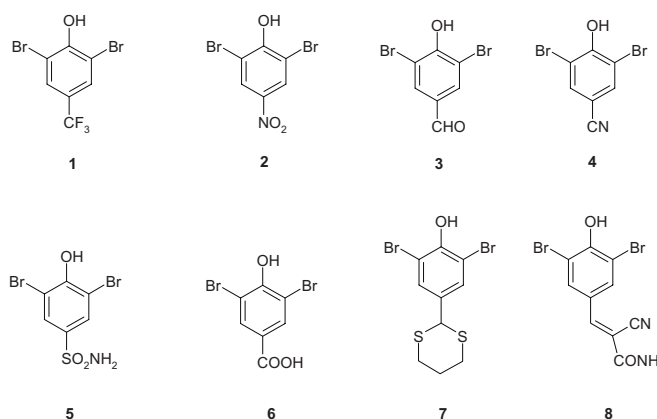
El análogo 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído (**3**) ocasionó que los bordes de las hojas adquirieran color amarillento y algunas se secan a la dosis de  $10^{-4}$  M; a la dosis  $10^{-3}$  M algunas hojas secas, con manchas y algunas plantas muertas; a la concentración de  $10^{-2}$  M plantas completamente secas.

Las plantas tratadas con el 3,5-dibromo-4-hidroxibenzonitrilo (**4**) herbicida comercial, fueron afectadas en todas las concentraciones y todas murieron. Este se utilizó como estándar.

El derivado 3,5-dibromo-4-hidroxibencensulfonamida (**5**) afectó al 50% de las plantas a todas las concentraciones.

El ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoico (**6**) no ocasionó daño aparente a la dosis más baja ( $10^{-4}$  M); a la concentración de  $10^{-3}$  M, se observó la muerte del 50% y a la dosis más alta el 100% de las plantas murió.

Las plantas tratadas con el análogo 2,6-dibromo-4-[1,3]ditian-2-il-fenol (**7**) presentaron los bordes de las hojas amarillentos a la concentración de  $10^{-4}$  M, a la siguiente con-

**Fig. 1.** Estructuras del Bromoxinil (4) y sus análogos.**Tabla 2.** Plantas muertas (%) con los diferentes tratamientos

Sustancia	Concentración (M)			
	0	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-2}$
1	0	0	4	4
2	0	4	4	4
3	0	2	2	3
4	0	4	4	4
5	0	2	2	2
6	0	0	2	4
7	0	1	1	3
8	0	0	0	0

Escala: 0 = 0% plantas muertas; 1 = 25% plantas muertas; 2 = 50% plantas muertas; 3 = 75% plantas muertas; 4 = 100% plantas muertas.

centración el daño causado fue semejante al anterior y a la dosis más alta el 75% de las plantas murieron.

La 2-ciano-3-(3,5-dibromo-4-hidroxifenil)-acrilamida (**8**) ocasionó daños leves a todas las hojas, sin llegar a matar una sola planta, el efecto fue mínimo.

En el análisis estadístico se encontró que las diferencias en biomasa se deben a las sustancias y a la concentración a la cual se aplicaron, lo cual indica que la producción de biomasa se vio afectada fuertemente por la interacción de estos factores, y no son producto del azar. El porcentaje de error en esta última hipótesis es menor al 1%.

## Conclusiones

- De los 7 compuestos que se probaron únicamente la 2-ciano-3(3,5-dibromo-4-hidroxifenil)-acrilamida (**8**) no presentó efecto.
- El daño causado a las plantas de frijol por el 2,6-dibromo-4-nitrofenol (**2**) fue semejante al que produjo el herbicida comercial Bromoxinil.
- El derivado 2,6-dibromo-4-trifluorometilfenol (**1**) tuvo un efecto letal para las plantas de frijol a las dosis intermedia y mayor.
- Los análogos 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído (**3**), 3,5-dibromo-4-hidroxibencensulfonamida (**5**), ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoico (**6**) y 2,6-dibromo-4-[1,3]ditian-2-il-fenol (**7**) presentaron un efecto intermedio.
- El análisis estadístico demostró un alto grado de influencia de las sustancias usadas, en la producción de biomasa.
- El efecto herbicida es dependiente de la sustancia y la concentración a la cual se aplicaron a las plantas, y la interacción entre dichas variables resultó altamente significativa.

## Parte experimental

**Preparación de los derivados.** Los análogos 2,6-dibromo-4-trifluorometilfenol (**1**), 2,6-dibromo-4-nitrofenol (**2**), 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído (**3**) y 3,5-dibromo-4-hidroxibenzonitrilo (**4**), se prepararon a partir del correspondiente fenol, con ácido bromhídrico y peróxido de hidrógeno a una temperatura controlada [16]. Se obtuvieron los productos correspondientes los cuales se identificaron por sus características físicas y espectroscópicas [8,15]. La 3,5-dibromo-4-hidroxibencensulfonamida (**5**) se preparó a partir de la sulfanilamida, por medio de bromación con ácido bromhídrico y peróxido de hidrógeno, diazoción e hidrólisis. Sus características coinciden con las informadas [17,18].

El ácido 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoico (**6**) se preparó a partir del 4-hidroxibenzoato de metilo, con ácido bromhídrico, ácido acético glacial y peróxido de hidrógeno [15], para obtener el 3,5-dibromo-4-hidroxibenzoato de metilo, el cual se disolvió en metanol y se hidrolizó con hidróxido de sodio acuoso. Se obtuvo un rendimiento del 98%. El intermediario y el producto se identificaron en base a sus características espectroscópicas y físicas [23]. 2,6-dibromo-4-[1,3]ditian-2-il-fenol (**7**) se obtuvo al hacer reaccionar el 3,5-dibromo-4-hidroxiben-

zaldehído (**3**) con 1,3-propanditiol de acuerdo con el método de Islam *et al.* [19a] o de Kazahaya [19b]. El producto se identificó por sus propiedades espectroscópicas [8], el punto de fusión encontrado (155-157°C), es superior al informado [8]. La preparación de la 2-ciano-3-(3,5-dibromo-4-hidroxifenil)-acrilamida (**8**) a partir del 3,5-dibromo-4-hidroxibenzaldehído se hizo de acuerdo con lo descrito en la literatura al hacerlo reaccionar con cianoacetamida en medio básico [20]. El producto se identificó por sus propiedades físicas y espectroscópicas.

**Métodos biológicos.** Se utilizaron 100 macetas con capacidad para 500 g de tierra negra, en cada una de ellas se sembraron 4 semillas de maíz. Se utilizó un diseño de experimentos completamente al azar [21, 22], se aplicaron cuatro tratamientos a saturación, de cada una de las sustancias a las siguientes concentraciones:

$$C_1 = 0.0 \text{ M}; C_2 = 0.01 \text{ M}; C_3 = 0.001 \text{ M}; C_4 = 0.0001 \text{ M}$$

Las soluciones se prepararon de la siguiente manera: Se pesó la cantidad correspondiente de cada una de las sustancias para preparar una solución 0.01 M en 100 mL, se disolvió con 1 mL de acetona y se aforó a 100 mL con una solución de Tween 80 al 0.2%. Las macetas se mantuvieron en invernadero a una temperatura de 22 °C a 28 °C, con una humedad relativa de 30 a 40%; iluminación artificial indirecta con 3 lámparas de 500 watt colocadas aproximadamente a 2 m de distancia, para evitar sobrecalentamiento de las plantas. Se regaron cada tercer día. La aplicación de los tratamientos se efectuó a las tres semanas de establecido el cultivo. Se registraron los efectos ocasionados por las sustancias aplicadas a partir del tercer día. A los 17 días se terminó el experimento. Se extrajeron las plantas de las macetas, se lavó la raíz con agua, se registraron las plantas muertas y vivas, se secaron las plantas completas en horno eléctrico, hasta peso constante para determinar la cantidad de biomasa y se aplicó un tratamiento estadístico (Diseño factorial de 4x8) [21, 22].

## Referencias

1. Rodríguez de la Torre M. *Plantas nocivas y cómo combatirlas*. Editorial Limusa, México, **1990**, 19-23
2. Sanders, H. J. *Chem. Eng. News*. **1981**, 59, 20-36.
3. Colvin, D. L. *Florida's Organo-Auxin Herbicide Rule*, Agronomy Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, **1996**.
4. Barón, M.; Chueca, A.; López, G. J. *Investigación y Ciencia. Scientific American*, **1987**, 10-17.
5. Lotina, H. B.; Albores, V. M.; García, Ch. L. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1989**, 33, 109-117.
6. Vicentini, Ch. B.; Mares, D.; Tartari, A. Manfrini, M.; Forlani, G. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 1898-1906.
7. Palacios, A. J.; Estrada, M. E. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1991**, 35, 108-113.
8. Albores, M.; Lotina, B.; Zapién, A.; González, G.; Migueles, L. *Pestic. Sci.* **1986**, 17, 936-402.
9. Thies, F.; Backhaus, T. Bossman, B.; Grimme, L. H. *Plant. Physiol.* **1996**, 112, 361-370.

10. Nithia, S. M. J.; Shanthi, N.; Kulandaivelu, G. *Photosynthetica* **2005**, *43*, 307-311.
11. Sano, H.; Mio, S.; Hamura, M.; Kitagawa, J.; Shindou, M.; Honma, T.; Sugai, S. *Boisci. Biotech. Biochem.* **1995**, *59*(12), 2247-2250.
12. Sano, H.; Sugai S., *Tetrahedron* **1995**, *51*, 4635-4646.
13. Sano S., Sugai S. *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 1143-1150.
14. Sano H., Mio S., Kumagawa Y., Kitagawa J., Shindou M., Honma T., Sugai S., *Biosci. Biotech. Biochem.* **1996**, *60*, 1198-1200.
15. Jones, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 2346-2350.
16. Barhate, N. B.; Gajare, A. S.; Wakharkar, R. D.; Bedekar, A. V. *Tetrahedron Letters.* **1998**, *39*, 6349-6350.
17. Cannell, L. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 2927-2932.
18. Aubort, J. D. *Helv. Chim. Acta* **1968**, *51*, 2098-2102.
19. (a) Islam, S.; Majee, A.; Mandal, T.; Khan, A. T. *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 2911-2916. (b) Kazahaya, K.; Tsuji, S.; Sato, T. *Synlett* **2004**, 1640-1642.
20. Texier-Bouillet, F.; Foucaud, A. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 4927-8.
21. Fowler J. y Cohen L. *Practical statistics for field biology*. John Wiley & Sons. Chichester, UK. **1992**.
22. Gómez, K. A., Gómez, K. A. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. 2<sup>a</sup>. ed., John Wiley & Sons, Singapore, **1984**, pp. 84-97.
23. Samson, A. M.; Santos, A. C. *Univ. Philippines Natural and Applied Sci. Bull.* **1934**, *4*, 149-54. *Chem. Abstr.* **1935**, 29:36666 AN 1935:36666
24. [www.chem-online.org/agrochemical/bromoxynil.htm](http://www.chem-online.org/agrochemical/bromoxynil.htm). Consultada el 16/02/2008.