



FACULTAD DE
AGRONOMIA
UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

**EVALUACION BIOLOGICA PRIMARIA DE
DERIVADOS DE N-OXIDO DE 1,2,5-OXADIAZOL,
DE DERIVADOS DE N-OXIDO DE BENZO
[1,2-c]1,2,5-OXADIAZOL Y DE DERIVADOS
DE N,N'-DIOXIDO DE QUINOXALINA**

por

Marisa V. LEMA REYES

TESIS

2000

MONTEVIDEO

URUGUAY



**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE AGRONOMIA**

EVALUACION BIOLOGICA PRIMARIA DE DERIVADOS DE N-OXIDO DE 1,2,5-OXADIAZOL, DE DERIVADOS DE N-OXIDO DE BENZO[1,2-c]1,2,5-OXADIAZOL Y DE DERIVADOS DE N,N'-DIOXIDO DE QUINOXALINA

Por

FACULTAD DE AGRONOMIA



DEPARTAMENTO DE
DOCUMENTACION Y
BIBLIOTECA

Marisa V. LEMA REYES

TESIS presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Ingeniero Agrónomo (Orientación Agrícola-ganadera)

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2000**

Tesis aprobada por:

Directores:

Grisel FERNANDEZ

Hugo CERECETTO

Mercedes GONZALEZ

Juana VILLALBA

Fecha:

Autor:

Marisa Lema Reyes

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la colaboración de:

- Ing. Agr. Grisel Fernandez; Cátedra de Cereales. Facultad de Agronomía.
- Qco. Hugo Cerecetto; Cátedra de Química Orgánica. Facultad de Química.
- Qco. Mercedes Gonzalez. Cátedra de Química Orgánica. Facultad de Química.
- Ing. Agr. Juana Villalba. Cátedra de Cereales. Facultad de Agronomía.
- Ing. Agr. Oscar Bentacur. Cátedra de Estadística. Facultad de Agronomía.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PAGINA DE APROBACION.....	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE CUADROS	IV
I. <u>INTRODUCCION</u>	1
II. <u>REVISION BIBLIOGRAFICA</u>	2
A. PASOS EN LA OBTENCIÓN DE UNA MOLÉCULA HERBICIDA	2
1. <u>Laboratorio</u>	2
2. <u>Evaluación primaria</u>	3
3. <u>Evaluación secundaria</u>	3
4. <u>Evaluación terciaria</u>	4
5. <u>Pruebas de seguridad</u>	6
6. <u>Pasos limitantes</u>	9
7. <u>Costos y dificultades</u>	9
B. EVALUACIÓN BIOLÓGICA.....	10
1. <u>Principales características generales de herbicidas de la familia de triazinas</u>	12
a. Características generales.....	12
b. Modo y mecanismo de acción.....	12
c. Absorción.....	12
d. Traslocación.....	12
e. Pérdidas.....	13
f. Selectividad.....	13
g. Sintomatología.....	13
h. Toxicidad.....	13
i. Usos.....	14

2.	<u>Principales características generales de herbicidas de la familia de bupiridilos</u>	14
	a. Características generales.....	14
	b. Modo de acción.....	14
	c. Mecanismo de acción.....	14
	d. Absorción.....	15
	e. Traslocación.....	15
	f. Comportamiento en suelo.....	15
	g. Pérdidas.....	15
	h. Selectividad.....	15
	i. Sintomatología.....	16
	j. Toxicidad.....	16
	k. Usos.....	16
III.	<u>MATERIALES y METODOS</u>	17
	A. DESCRIPCIÓN DE LA SÍNTESIS QUÍMICA.....	17
	B. DESCRIPCIÓN DE LA EVALUACIÓN BIOLÓGICO.....	19
	C. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
	D. PROCESAMIENTO DE DATOS.....	21
IV.	<u>RESULTADOS</u>	22
V.	<u>ANÁLISIS CONJUNTO DEL TOTAL DE LAS EVALUACIONES</u>	30
VI.	<u>CONCLUSIONES</u>	32
VII.	<u>RESUMEN</u>	33
VIII.	<u>SUMMARY</u>	34

IX.	<u>BIBLIOGRAFIA</u>	35
X.	<u>ANEXO</u>	37

I. INTRODUCCION

El control de malezas en los cultivos se realiza en la mayoría de los casos, por control químico. Numerosos herbicidas y diferentes formulaciones de éstos son comercializados en nuestro país, todos importados dado que en Uruguay no se fabrican principios activos.

Al presente existe un creciente interés de contar con productos de baja toxicidad para el hombre y el medio ambiente, que aseguren además una adecuada selectividad en cultivos y elevada eficiencia en el control de las malezas. Esto constituye la explicación para el incremento de los esfuerzos que vienen realizándose en la síntesis de compuestos orgánicos con esas características.

Es además la razón por la cual desde hace un tiempo, la Cátedra de Química Orgánica de la Facultad de Química viene desarrollando investigaciones en el tema. En particular, se ha enfocado el estudio hacia la combinación en una sola molécula de los grupos químicos responsables de la acción fitotóxica de herbicidas tales como los bipyridilos y las atrazinas. Estos compuestos, son potenciales generadores de radicales libres lo cual los convierte en atractivos inhibidores de la fotosíntesis y por su similitud con los herbicidas bipyridilos pueden ser potentes descompartmentalizadores celulares.

El presente trabajo tuvo por objetivo estudiar el potencial fitotóxico de varias familias de compuestos derivados del N-óxido de 1,2,5-oxadiazol, del N-óxido de benzo [1,2-c]1,2,5-oxadiazol y del N, N'-dióxido de quinoxalina.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

Sobre la base del artículo "Evaluation of a new herbicides" de Copping, L. G. et. al., se realizó la siguiente síntesis de las etapas involucradas en la evaluación de nuevas moléculas herbicidas, aún cuando este trabajo experimental solamente constituyó la evaluación biológica primaria.

Se revisaron además las características generales de los grupos químicos triazinas y bupiridilos, porque de ellos se tomaron las estructuras activas comunes y de su fusión se obtuvieron las distintas moléculas que fueron sometidas a los bioensayos.

A. PASOS EN LA OBTENCIÓN DE UNA MOLÉCULA HERBICIDA

En el desarrollo de una nueva molécula herbicida se tiene por objetivos encontrar un producto con eficaz actividad y acorde a los requerimientos del mercado, de forma que se constituya en un producto vendible. Se buscan lograr determinadas características para este producto de forma de asegurar su inserción en los sistemas de producción, amplio espectro de control, persistencia en suelo, selectividad con amplia tolerancia varietal, rango de momento de aplicación extenso y baja movilidad en suelo.

En la formación de una nueva molécula herbicida se suceden varias etapas. Las mismas se detallan a continuación:

1. Laboratorio

Hay varias modalidades posibles para comenzar la síntesis química en el laboratorio. Generalmente se desarrollan productos herbicidas análogos, parecido a otro que esté comercialmente en uso, mejorando las características del producto ya existente. Se puede unir químicamente dos moléculas buscando una combinación que potencie las mejores características de las moléculas originales. Otra estrategia es la obtención de nuevos compuestos a partir de mínimas variantes en una misma molécula (p.ej.: el caso de las modificaciones en el anillo de un derivado de

la urea, el diuron con probada actividad herbicida, que permitió la síntesis del epronaz).

2. Evaluación primaria

Esta evaluación primaria tiene por objetivo conocer la actividad de la molécula de forma de eliminar rápidamente las moléculas inactivas.

En el establecimiento de estas pruebas se pueden usar cultivos o malezas. El uso de cultivos tiene por ventaja que se dispone de semillas con facilidad, ésta es genéticamente uniforme, no presenta dormancia y son de viabilidad conocida. La argumentación para realizar los test con semillas de malezas es que los herbicidas se usan para la eliminación de éstas. A los efectos de los objetivos perseguidos en esta primera etapa resulta de igual utilidad usar una u otra semilla.

Este primer testeo debe realizarse en cámara de crecimiento e invernadero, en condiciones controladas. La utilización de un tratamiento testigo permite la comparación.

El tipo de suelo en que se siembran las plantas es un factor importante, dado que es necesario darle todas las condiciones para que los productos actúen. Es por ello que se utilizan generalmente suelos limo-arenosos; para evitar que los productos puedan ser adsorbidos por partículas del suelo.

La cantidad de producto usado en el test son las máximas, como forma de rechazar inmediatamente las moléculas que no resulten.

3. Evaluación secundaria

Se denomina así a la continuación de los test pero con el objetivo de determinar actividad de los compuestos no rechazados en la evaluación anterior usando máximas dosis.

Las cantidades evaluadas en esta etapa son más bajas y se testan en las mismas especies vegetales utilizadas en la primera etapa. Se intenta

trabajar con cantidades inferiores hasta llegar a una dosis en que no se detecte actividad herbicida (estudios dosis-respuesta). Al igual que en la etapa anterior se usan testigos para la comparación. En general se utiliza como testigo el compuesto que resultara con la mayor actividad.

En las evaluaciones primarias como en las secundarias se utilizan dispersantes en agua y también agregados de surfactantes para mejorar el mojado en planta. Los productos que son insolubles en los disolventes típicamente utilizados en los bioensayos, son formulados, generalmente como polvos finos en presencia de un agente de suspensión y luego dispersados en agua con el agregado de un humectante. Esta técnica permite que los compuestos sean comparados en condiciones idénticas.

Algunas empresas prefieren completar la formulación antes de realizar las evaluaciones. Estas deben ser polvos mojables o concentrados emulsionables en un sistema de disolventes complejos. El argumento para esto es que los primeros producen uniformidad de formulación y los segundos optimizan la actividad.

4. Evaluación terciaria

Esta etapa se lleva a cabo en campo y en la misma se busca en primer término comprobar el buen comportamiento de la molécula herbicida en condiciones reales de crecimiento y por lo tanto se incluyen cultivos, malezas y las interacciones posibles. De esta forma es posible además determinar la selectividad en cultivos, así como el espectro de malezas que controla.

En segundo lugar se busca investigar los efectos del tipo de formulación y de los factores ambientales en el comportamiento y en el potencial uso del producto en cuestión.

La selección de los posibles compuestos a ser testeados en campo, se basa en dos criterios distintos. El primero de ellos establece que deberán ser testeados a campo todos aquellos compuestos que pertenezcan a una serie química de la cual nada se conoce y hayan demostrado selectividad a dosis consideradas como económicamente efectivas. Se pretende conocer de esta manera la efectividad con que se transfiere la actividad del invernáculo al campo.

En general se ha observado una buena transferencia en el caso de los herbicidas de acción postemergentes cuya actividad sólo se ve reducida de 2 a 4 veces.

Por el contrario los herbicidas preemergentes, han mostrado una gran variabilidad en su comportamiento. Ejemplo de esta variabilidad lo constituyen las diferencias observadas entre isoproturon y alaclor. En el caso del primer herbicida se comprobaron reducciones en la actividad del orden de 2 a 4 veces, muy similares a las detectadas para los postemergentes. Mientras que el alaclor, quien se comporta como altamente activo en el invernáculo, generalmente muestra una reducción en la actividad a campo de 8 a 16 veces.

El segundo criterio es el que pauta la evaluación en los casos de compuestos que pertenecen a series químicas bien conocidas. Aquí una evaluación inteligente que involucre la comparación con el análogo más efectivo debería identificar cualquier posible ventaja en selectividad, actividad, o persistencia y sólo aquellos compuestos que presenten ventajas potenciales deberán ser testeados a campo.

En las evaluaciones a campo donde no se pueden controlar las condiciones ambientales, éstas pueden ser extremas y alterar el comportamiento de la molécula activa y no reflejar los resultados encontrados en el invernáculo. Por lo tanto las condiciones ambientales deben ser perfectamente caracterizadas, especialmente si la eficiencia del producto interacciona con factores como luz, temperatura, humedad y características anátomo-fisiológicas de las hojas sobre las cuales se asperja.

Al comienzo de una evaluación a campo se acepta que bajo las condiciones reales el comportamiento del herbicida va a ser variable. Cuando se decide este tipo de investigación, ya se tiene certeza de la actividad del compuesto. Por lo tanto el diseño del experimento debe contemplar y explicar la variabilidad entre los test de invernáculo y de campo; y permitir obtener datos confiables, formar conclusiones y poder dar objetivas recomendaciones.

El ensayo debe ser diseñado lo más preciso posible. La precisión implica baja variabilidad, y puede ser aumentada mediante un mayor número de repeticiones, selección de los tratamientos, mejoras en las aplicaciones y técnicas de valoración, mayor tamaño de parcela, el uso de técnicas estadísticas apropiadas y la elección del sitio.

También el objetivo debe ser cuidadosamente considerado. Tratar de obtener varios objetivos en un solo ensayo lleva a mayor variabilidad en los resultados.

5. Pruebas de seguridad

Además de las pruebas biológicas realizadas al nuevo producto son necesarias pruebas de seguridad. Inicialmente se realizan estudios de toxicidad para seguridad del laboratorista y del investigador de campo que trabajan con los compuestos. A medida que el compuesto progresa en la evaluación biológica comienza un completo programa para generar datos básicos para soportar el desarrollo del producto y para satisfacer las normas regulatorias nacionales. Estos datos son de amplio rango y cubren básicamente propiedades físicas, químicas, test de toxicidad, destino ambiental, ecotoxicidad, residuos en los cultivos y varios otros estudios secundarios.

Antes que el producto pueda ser vendido debe tener una adecuada seguridad tanto para las personas que lo manejan, mezclan y aplican como para los consumidores del cultivo tratado y la calidad del ambiente a corto y a largo plazo.

A los efectos de asegurar que el producto tenga las características de seguridad mencionadas se realizan una serie de estudios de los cuales se presenta a continuación una síntesis:

Estudios toxicológicos: numerosas pruebas de toxicidad son llevadas a cabo para realizar predicciones sobre los efectos de los herbicidas en el hombre. Para estas se utilizan mamíferos, especialmente los estudios se hacen en ratas, ratones y también en perros y primates. Al comienzo de la investigación del nuevo herbicida se realizan estudios sobre la base de la dosis L50, dosis sub aguda o rangos de dosis de modo de definir más críticamente la naturaleza de la toxicidad, tal cual órgano blanco, química clínica y hematología. Después que se ha tomado la decisión de empezar un desarrollo general, se realizan estudios complementarios, estudios sobre rangos de toxicidad, esto incluye estudios de 90 días hasta estudio crónicos de dos años, de toxicidad oncogénica, generalmente en dos especies animales. Además de esto se inician pruebas para investigar el potencial mutagénico, efectos sobre la reproducción y la farmacocinética y metabolismo en los animales.

Generalmente la continuación de programas de desarrollo del producto a través de los ensayos de investigación, predesarrollo y desarrollo total, están relacionados a los resultados de ciertos estudios toxicológicos.

Estudios sobre los efectos en el medio ambiente: antes de ser registrado o vendido el herbicida, es necesario asegurarse que su uso no causa efectos ambientales. Para ello se estudian diferentes parámetros, generalmente en aplicaciones postemergentes usando técnicas de pulverizaciones convencionales donde la cantidad de herbicida que llega al suelo va desde un 30 % a un 60%. Los estudios deben contemplar estimaciones de algunos procesos que pueden ocurrir, como el escurrimiento a cursos de agua, percolación hacia aguas subterráneas, efectos en la vida macro y microbiana del suelo, efectos en los animales que comen semillas tratadas de los cultivos y en los demás animales que están más arriba en la cadena alimentaria.

Destino en el ambiente: en las evaluaciones iniciales del producto se realizan estudios en el laboratorio para determinar características como solubilidad en el agua, el efecto de ácidos y álcalis, el coeficiente de partición octanol-agua, las propiedades de adsorción y desorción en el suelo y tasas de hidrólisis. Con estos datos se pueden hacer predicciones del comportamiento del herbicida en el suelo y en el agua y por lo tanto su potencial impacto ambiental. A medida que el desarrollo progresa los estudios del laboratorio comienzan a investigar completamente la degradación, metabolismo y persistencia en suelo y en agua. Si se encuentran indicios de lixiviación en suelo, los estudios serán llevados en el sentido de confirmar estos resultados.

Conjuntamente se estudian los efectos de la temperatura, contenido de humedad, tipo de suelo, concentración y momento de aplicación. Estos datos son usados para determinar el metabolismo del herbicida y para calcular la vida media y el tiempo para el 90 % de desaparición, la DT 90 del herbicida. Los metabolitos producidos por el desdoblamiento del herbicida también pueden ser investigados; además el metabolismo anaeróbico en el suelo. Otros estudios son la potencial fotodegradación en la superficie del suelo y la fotólisis en el agua.

Ecotoxicidad: el fundamento para estos estudios es que el herbicida puede entrar en el curso de agua por accidente, por erosión o escurrimiento del agua superficial luego de una aplicación; por lo que se estudia la toxicidad en peces y otras especies acuáticas así como también su reproducción.

Estas investigaciones se realizan en sistemas dinámicos para toxicidad aguda y crónica y bio acumulación potencial.

También son necesarios estudios de toxicidad en pájaros, debido a que estos pueden consumir cultivos en la emergencia o en estado temprano de crecimiento o cuando el cultivo está maduro. Estos abarcan a distintas clases de pájaros, y en ellos se prueba el efecto del producto sobre la cría y sobre la reproducción. Idénticos estudios se llevan a cabo en abejas, organismos del suelo macro y micro tales como lombrices de tierra y bacterias.

Residuos en los cultivos: los herbicidas aplicados a los cultivos o al suelo en donde crecen pueden estar presentes en las partes cosechables, lo que hace necesario investigar el destino y naturaleza de los residuos definitivos en las varias modalidades de comida tratados y consumidos.

Ensayos de residuos son realizados en el campo por dos años y en varias localidades. Inicialmente se toman muestras de residuos de ensayos repetidos donde el herbicida ha sido aplicado a varios niveles de dosis hasta por lo menos dos veces la dosis máxima anticipada. Dependiendo de la naturaleza y uso del herbicida puede ser importante investigar el residuo en el cultivo cosechado luego de la aplicación a diferentes estados de desarrollo del cultivo. El ensayo puede llevarse a cabo un año más, usándose aplicaciones de herbicida al cultivo blanco con equipos de aplicación comerciales convencionales bajo normas de uso agrícola.

Si existe un significativo residuo en el grano deben ser necesarios llevar a cabo más trabajos sobre esta parte del cultivo, para investigar el destino del residuo luego de cocinado, procesado, etc.. Un residuo significativo en un grano de cereal puede necesitar de la investigación del destino del residuo luego de molido y horneado en harina y pan respectivamente.

Si hay posibilidades de que haya residuos significativos en el cultivo ya sea que vaya al consumo humano o animal, es importante investigar también el potencial de acumulación en la carne o leche.

Estos datos al igual que aquellos para los estudios de residuos del cultivo son importantes en la evaluación de los efectos potenciales para los consumidores.

Datos a partir de estudios toxicológicos de largo plazo se han usado para estimar el nivel de efecto no observables. Este es el nivel administrado

en la dieta durante la vida de los animales de prueba que no causa efectos toxicológicos observables. A partir de esto un consumo diario aceptable para una persona puede ser derivado usando un factor apropiado de seguridad. Conociendo el máximo nivel de residuo logrado a partir de ensayos de residuos a la máxima dosis comercial de uso y el consumo promedio diario de un cultivo en particular puede realizarse una comparación entre el consumo diario aceptable derivado de estudios toxicológicos y máximo consumo potencial a partir del uso del producto. A medida que esto último no exceda a lo anterior se considera que no hay riesgo a largo plazo para los consumidores de estos cultivos tratados.

6. Pasos limitantes

Corroborar la actividad lograda en invernáculo para una molécula herbicida en condiciones de campo constituye uno de los pasos más limitantes en la obtención de un nuevo herbicida. Ello se debe a que en cámara o en invernáculo las condiciones son controladas, y en el campo operan múltiples factores, como clima, suelo, especies de malezas, estado de desarrollo del cultivo y de las malezas, etc.

Para ello es necesario desarrollar diseños experimentales muy precisos que indiquen la variación del comportamiento debido al ambiente. La caracterización de éste para saber de que forma actúa sobre el producto y así poder levantar las restricciones.

Para realizar estas investigaciones se debe tener en cuenta factores tales como pruebas en diferentes sitios, con varias repeticiones, lo que dificulta en tiempo y espacio formar conclusiones claras y objetivas.

Paralelamente a las pruebas de actividad en el campo se realiza las relacionadas al impacto ecotoxicológico, pudiendo ser éste un paso limitante para que el producto llegue al mercado.

7. Costos y Dificultades

Obtener una molécula nueva que tenga actividad y pueda ser usada en un futuro como herbicida, es un proceso muy largo. Lleva a realizar cientos de pruebas biológicas, alteraciones en las distintas moléculas obtenidas en el laboratorio, pruebas en cámara de crecimiento e invernáculo. Esto implica un alto costo en dinero y en tiempo siendo que en ocasiones

recién a partir de los 14 años se lograría la recuperación de la inversión de la creación.

B. EVALUACIÓN BIOLÓGICA

La evaluación biológica consiste en probar a nivel de plantas si existe actividad herbicida de las moléculas obtenidas en el laboratorio.

El objetivo es cuantificar cuál y qué tipo de daño ocasionan en malezas. Así como también medir la selectividad frente a un determinado cultivo.

Cada especie de maleza reacciona diferente frente a un determinado herbicida, dado sus características morfológicas, fisiológicas, etc. A su vez existe gran variedad de herbicidas que actúan en forma distinta, e introducen numerosos cambios en el crecimiento de las plantas y sus estructuras. Estos cambios pueden ser desde la inhibición del crecimiento a malformaciones morfológicas, pueden afectar la planta entera o sólo alterar algunos órganos en particular (Ashton, 1981).

Los herbicidas producen cambios en la división de las células, el aumento de las células y diferenciación, también causa deterioro celular y de tejidos. Estos cambios incluyen la inhibición del crecimiento, los efectos en malformación, follaje, destrucción de clorofila, y modificaciones en la permeabilidad de membranas.

La inhibición del crecimiento es común en todos los herbicidas. Los que actúan del tipo de contacto, rápidos, matan los tejidos antes de observarse la inhibición del crecimiento. Esta inhibición puede ser casi directa en la naturaleza cuando es causado por una interferencia con la división o alargamiento celular, o indirecta cuando es causado por una diferencia de los cambios metabólicos como los inhibidores de la fotosíntesis.

El encorvamiento, torsión y enroscamiento de tallos y hojas es síntoma común de las auxinas. Este componente también puede causar accidentes en la raíz, callos de los órganos de formación.

Por otra parte reacciones de clorosis seguida de necrosis son comunes en plantas tratadas con herbicidas que inhiben la fotosíntesis,

exámenes ultraestructurales de hojas usualmente revelan degeneración de cloroplastos.

Hojas necróticas generalmente no precedida de clorosis se desarrollan rápidamente con el uso de herbicidas tipo de contacto.

Los test en una evaluación biológica pueden realizarse en forma preemergente con aplicación del producto inmediatamente luego de sembradas la semillas, donde se evalúa el porcentaje de germinación y el desarrollo de las plántulas. Las evaluaciones en productos testeados postemergente con aplicaciones foliares se realizan cuando las plantas alcanzan un crecimiento de 1 a 3 hojas ó 8 cm de altura antes de comenzar la etapa de macollaje, siendo este momento de mayor susceptibilidad para medir la actividad de las nuevas moléculas (Kleschick et al., 1989, Eussen et al., 1989)

Las evaluaciones consisten en general en mediciones del desarrollo de las plantas tratadas a través de apreciación visual de daño comparados a plantas testigos sin tratamiento (Kleschick et al., 1989).

Algunos de los parámetros estimados a partir de las mediciones son la L50, definida como la concentración de producto químico requerida para reducir en 50% el crecimiento de las plantas y la L90 como la concentración que ocasiona reducción del 90 % (Kleschick et al., 1989 y L.G. Copping et al., 1995).

También se utiliza un Índice de selectividad, definido por la relación entre la dosis que da efectos aceptables en el cultivo y que alcanza un control de malezas comercialmente aceptable. Para niveles de daños y control de 10% y 95% respectivamente el índice de selectividad es: $IS = LC_{10} \text{ cultivo} / LC_{95} \text{ malezas}$. Estos índices permiten la comparación entre diferentes compuestos. (L.G.Copping., 1995)

La evaluación a campo puede arrojar diversos resultados. Puede definirse al producto testado como promisorio por su buen nivel de control, alta selectividad, baja toxicidad, costo interesante o puede fracasar por resultados inconclusos o por fallar en la etapa de campo. Lo cual puede estar explicado por ser un compuesto lábil, volátil, muy soluble, metabolizado por plantas o ser incapaz de penetrar la cutícula de las plantas.

Independiente del sistema usado el posible compuesto a testearse a campo debe ser formulado de tal forma que la actividad biológica sea

expresada con un sistema físicamente estable que se aproxime a una formulación comercialmente viable.

Una vez confirmada la formulación experimental (estabilidad física) debe ser probada la actividad biológica y selectividad para ver que no sea afectada por la formulación. Estos test se hacen bajo condiciones de invernáculo.

1. Principales características generales de herbicidas de la familia de triazinas

a. Características generales

Las triazinas sustituidas con poder herbicida fueron descubiertas por la firma suiza Geigy Limited en 1952. Dos ejemplos bien conocidos son la simazina y la atrazina.

b. Modo y mecanismo de acción.

Las atrazinas matan las plantas por que interfieren con la fotosíntesis. El primer modo de acción es la inhibición de la reacción Hill del transporte del electrón fotosintético. Se ha demostrado que estos herbicidas son potentes inhibidores de la reacción Hill, aún en cloroplastos aislados.

c. Absorción.

Una vez que estos herbicidas son incorporados y activados en el suelo, las malezas los absorben a través de las raíces .

d. Traslocación

La traslocación de estos herbicidas es por vía apoplasto, en la corriente transpiratoria, hacia las hojas.

e. Pérdidas

Se trata de compuestos relativamente solubles, con algo de humedad se solubilizan en superficie, sin necesidad de incorporarlos. De ser incorporados la dosis se diluye.

Estos compuestos son adsorbidos por los coloides del suelo , y por ello son relativamente difíciles de ser lixiviados, permaneciendo en los primeros centímetros del suelo. Pueden sufrir degradación microbiológica; algunos microorganismos del suelo utilizan a las triazinas como fuente de carbono y de nitrógeno.

f. Selectividad

Estos herbicidas pueden ser utilizados como destructores totales de las malezas cuando son usados a elevadas concentraciones, pero operan como selectivos en cultivos gramíneos, controlando malezas de hoja ancha a dosis menores.

g. Sintomatología

Los síntomas de daño se manifiestan en forma más severa en las hojas maduras y expandidas que están transpirando; dado que el herbicida se transporta por vía apoplasto.

Al ser el mecanismo de acción la inhibición de la fotosíntesis, las malezas crecen hasta que agotan las reservas de los cotiledones y luego empiezan a exhibir clorosis en las hojas que termina en necrosis, con muerte de las plántulas (Kogan, 1993).

h. Toxicidad

Son productos de elevada persistencia, por lo tanto su uso debe contemplar precauciones para los cultivos siguientes.

i. Usos

Controla principalmente malezas dicotiledóneas y algo de gramíneas (*Echinochloa* spp.).

2. Principales características generales de herbicidas de la familia de bipyridilos

a. Características generales

Los ejemplos más conocidos son: diquat y paraquat y fueron introducidos por la Plant Protection Division of Imperial Chemical Industries Limited en 1958. Estos herbicidas son sintetizados a partir de la piridina.

b. Modo de acción

Actúan principalmente por contacto, requieren de tejido fotosintéticamente activo y de radiación. Bajo condiciones de alta luminosidad su acción es violenta, apreciándose en pocas horas una destrucción total de la vegetación, si es aplicado en ausencia de luz o semisombra retarda en denunciar los síntomas (Kogan, 1993).

c. Mecanismo de acción

Se admite que las sales cuaternarias de amonio, de por sí, no son activas como herbicidas, sino que solamente lo son luego de la reducción de sus radicales dentro de la planta. Esta reducción está ligada a la fotosíntesis. Así, por ejemplo, el paraquat sufre un proceso de oxidorreducción en los cloroplastos. A partir del oxígeno molecular y con intervención de energía proveniente de la fotosíntesis, se forma peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Este peróxido se acumula en cantidades fitotóxicas en las células y provoca una ruptura de la compartimentalización celular. Esto lleva a una rápida deshidratación de los tejidos (Kogan, 1993).

d. Absorción

El diquat y el paraquat son rápidamente absorbidos por las hojas en la mayoría de las especies. Esta absorción es favorecida por las propiedades polares de estas molécula (Ashton, 1981).

e. Traslocación

Son traslocados a través del simplasto, que es destruido rápidamente, lo que limita su movimiento por la planta. Como requieren luz para actuar si el herbicida es aplicado en horas de oscuridad o en condiciones de semisombra puede producirse una cierta traslocación del herbicida a poca distancia (Ashton, 1981).

f. Comportamiento en suelo

Estos son sales de bases extraordinariamente fuertes, experimentan con facilidad intercambio de anión con otras sales con capacidad de intercambio. Se produce una inactivación prácticamente inmediata en contacto con la mayoría de los suelos, especialmente en aquellos más arcillosos y/o ricos en materia orgánica.

g. Pérdidas

Como el paraquat y el diquat son herbicidas que actúan por contacto, el éxito de su aplicación dependerá del grado de cubrimiento que se logre. Es por esto que se recomienda mojar, en lo posible la totalidad de la maleza, sin producir escurrimiento al suelo, ya que entonces se producirían pérdidas del producto (Kogan, 1993).

h. Selectividad

Ninguno de los dos herbicidas es selectivo, son llamados herbicidas totales.

i. Sintomatología

Se presenta marchitamiento y necrosamiento en hojas afectadas pocas horas después de la aplicación. Los síntomas se expresan más rápidamente cuando las plantas tratadas están expuestas a la luz solar directa. La necrosis foliar completa ocurre a los tres días del tratamiento (Ribas, 1997).

j. Toxicidad

El paraquat presenta una moderada toxicidad en mamíferos-LD 50 (oral), mientras que diquat es mucho menos tóxico. Pero cuando se ingiere en grandes cantidades, se produce una proliferación de las células de los pulmones, lo cual lleva a problemas respiratorios y luego a la muerte.

k. Usos

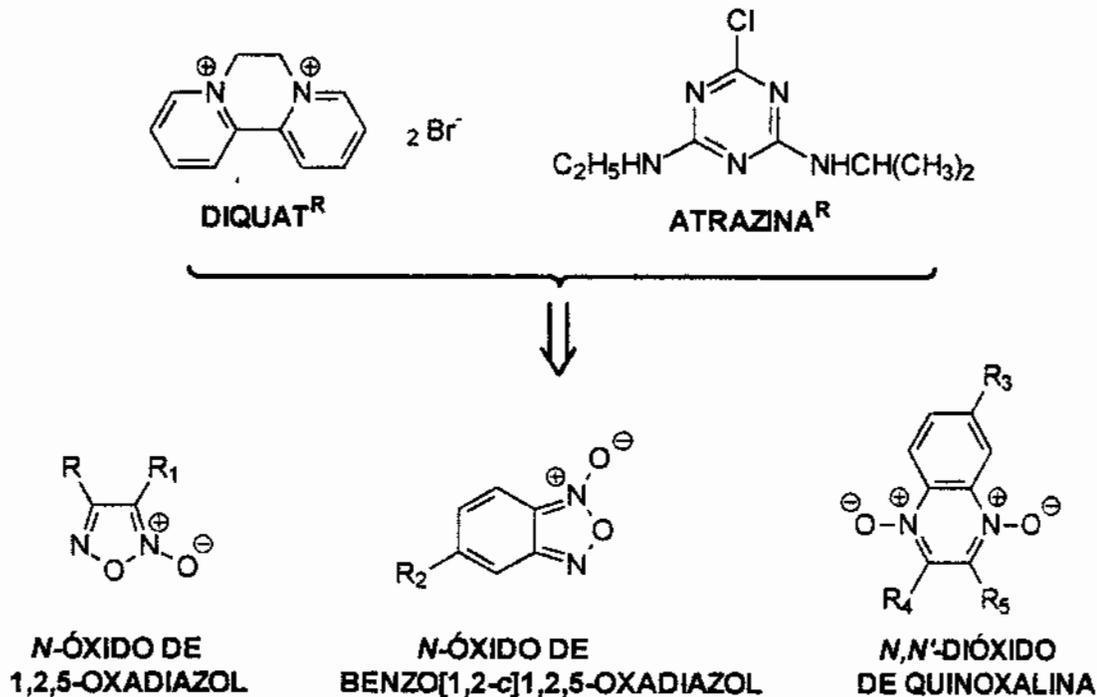
Ambos el paraquat y diquat, son ampliamente utilizados como desecadores de plantas. En concentraciones de (0,5- 1,5 kg/ha), el paraquat es un poco más efectivo contra las malezas que el diquat, y puede ser usado para controlar malezas antes de la siembra, la rápida desactivación en contacto con el suelo permite su uso como " arado químico ".

III. MATERIALES Y METODOS

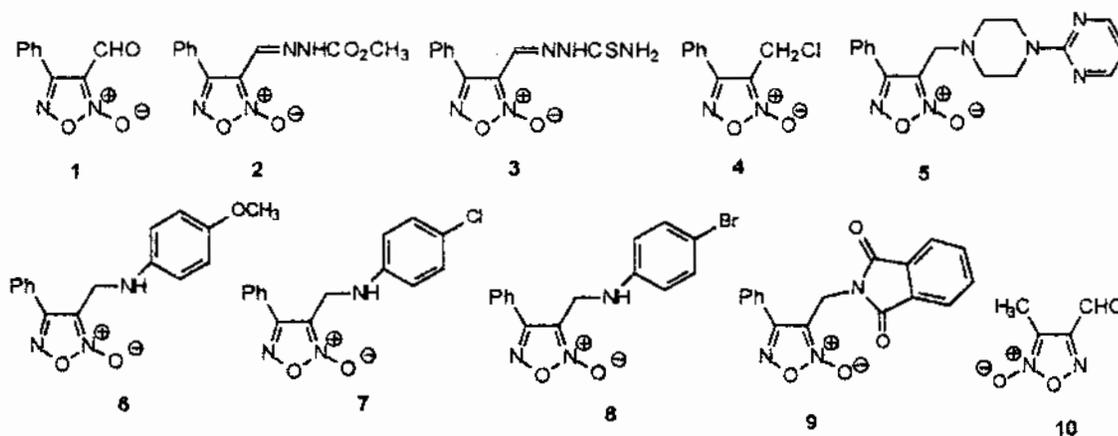
El ensayo consistió en la evaluación de diferentes moléculas sintetizadas en la Facultad de Química, con el objetivo de determinar la existencia de algún tipo de actividad herbicida. Se realizó una evaluación biológica primaria, en condiciones controladas en cámara de crecimiento.

1. Descripción de la síntesis química

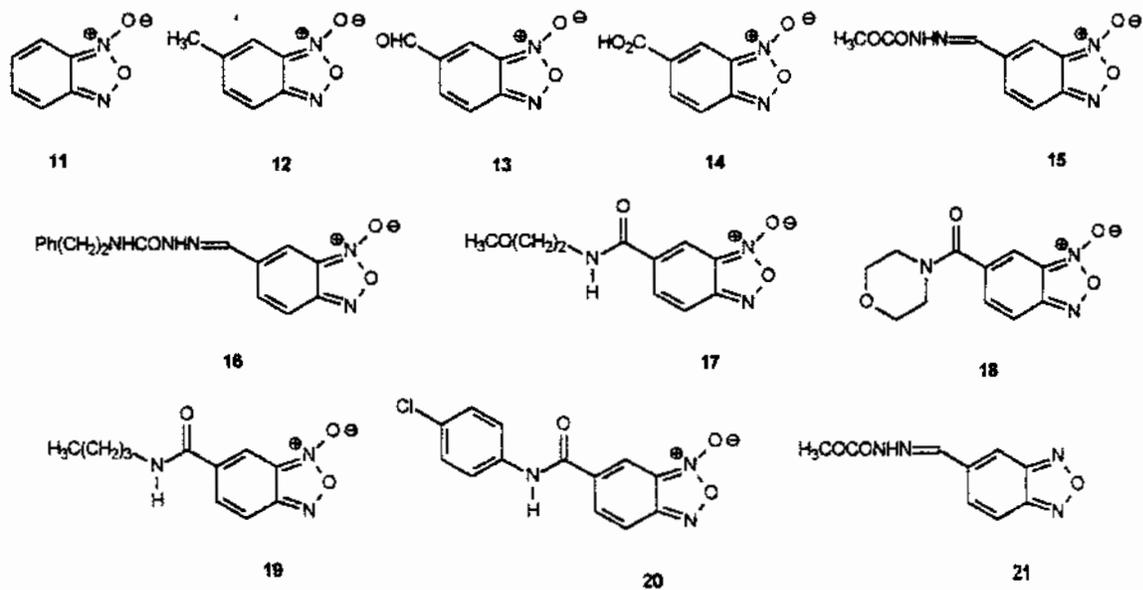
Los productos fueron desarrollados utilizando metodologías previamente descritas en la bibliografía (Gasco et al., 1991; Monge et al., 1998a; Fruttero et al., 1989; Smith and Boyer, 1963; Monge et al., 1995; Edwards and Bambury, 1975; Cerecetto et al., 1998; Cerecetto et al., 1999) por el grupo de la Cátedra de Química Orgánica de la Facultad de Química. Las estructuras de los compuestos se muestran en las siguientes figuras:



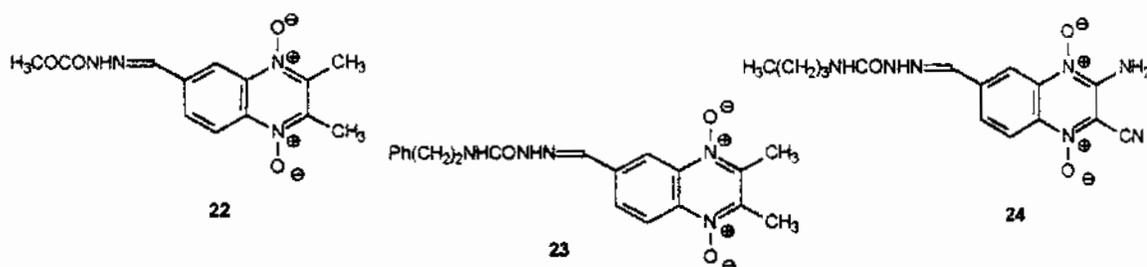
FAMILIA DE DERIVADOS DE N-ÓXIDO DE 1,2,5-OXADIAZOL:



FAMILIA DE DERIVADOS DE N-ÓXIDO DE BENZO[1,2-c]1,2,5-OXADIAZOL Y PRODUCTO SIN N-ÓXIDO (COMPUESTO 21):



FAMILIA DE DERIVADOS DE *N,N'*-DIÓXIDO DE QUINOXALINA:



2. Descripción de la evaluación biológica

La misma consistió en evaluar las moléculas en una especie muy sensible, de la que se dispusiera de buena cantidad de semilla, homogénea genéticamente y de germinación conocida.

Las moléculas fueron evaluados en tandas según eran recibidos desde el Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Química y así quedaron establecidos los siguientes grupos o tandas de evaluación:

Grupo N° 1: n° 11, 4, 5, 14. (*)

Grupo N° 2: n° 15, 13, 1, 10.

Grupo N° 3: n° 2, 3.

Grupo N° 4: n° 6, 7, 8, 17.

Grupo N° 5: n° 16, 18, 12.

Grupo N° 6: n° 21, 23, 22, 9.

Grupo N° 7: n° 19, 20.

Grupo N° 8: n° 19(0.2%), 19(2.5%), 19(3.3%), 24.

(*) Los compuestos numerados del n° 1 al n° 10 pertenecen a la familia de derivados N-óxido de 1,2,5-oxadiazol. Los compuestos numerados del n° 11 al n° 20 pertenecen a la familia de derivados de N-óxido de Benzo[1,2-c]1,2,5-oxadiazol. El n° 21 es un producto sin N-óxido. Los numerados del n° 22 al n° 24 pertenecen a la familia de derivados de *N,N'*-dióxido de quinoxalina.

A tales efectos se colocaron a germinar semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.), en un número de 40 por repetición en bandejas con arena esterilizada. El uso de arena esterilizada pretendió impedir la adsorción de los productos, y evitar una posible interferencia entre la fauna del suelo y la actividad de los mismos.

Luego se asperjó con el producto disuelto o suspendido en algunos de los siguientes vehículos: acetona ó DMSO (dimetilsulfóxido). Todas las soluciones de compuestos tienen la misma cantidad de moles de producto como para aplicar 50 mol/há de compuesto.

La aspersión del mismo contempló mantener constante el número de gotas/ superficie, así como el ángulo recto de aplicación con respecto al suelo.

Las condiciones de crecimiento fueron de 8 horas de luz y 20 ° C, sin restricciones hídricas, siendo regadas con agua destilada.

Los productos fueron aplicados en 5 repeticiones y en cada bandeja además se incluyó un testigo.

Cuando el desarrollo de las plántulas de trigo alcanzaba la 2ª - 3ª hoja las mismas eran retiradas de la cámara para la evaluación que consistió en las siguientes mediciones:

- conteo del total de plántulas emergidas para confeccionar el parámetro de porcentaje de emergencia.
- determinación del largo de hoja para lo cual se midió el largo de la primera hoja estirada en 20 plántulas por repetición tomadas al azar y se expresó en centímetros.
- peso seco en el total de las plántulas de las bandejas estimado en forma separada según correspondiera a raíces y parte aérea. Previo a esta estimación las plántulas fueron lavadas y colocadas en estufa a 60 °C durante 48 horas.

3. Diseño experimental

El diseño utilizado fue de bloques al azar, con 4 repeticiones en los grupos nº 1 y nº 5 y 5 repeticiones en los grupos restantes, donde los bloques fueron las distintas posiciones de las bandejas en la cámara de crecimiento.

4. Procesamiento de datos

El procesamiento de datos se realizó a través del procedimiento Mixed del paquete estadístico SAS versión 6.11. En los modelos utilizados para evaluar el efecto de los productos en cada corrida, se consideró al efecto bloque como aleatorio.

El test de separación de medias utilizado fue Tukey. La comparación del promedio de los productos contra el testigo fue realizada mediante contrastes. Los contrastes entre productos de diferentes grupos de evaluación (experimentos) fue realizado a través de la construcción de intervalos de confianza al 95%.

IV. RESULTADOS

Para el caso de la variable largo de hoja, los datos corresponden a la media de la medición de 20 plantas tomadas al azar del total, mientras que el peso aéreo y el peso radicular corresponden a un promedio por planta del total de las plantas germinadas, datos que también se muestran en los cuadros.

Se presentan y discuten a continuación los resultados obtenidos en la evaluación de los distintos productos organizados por grupos de evaluación. Tal como se comentara en materiales y métodos estos grupos de evaluación se corresponde a las distintas tandas de bioensayos realizadas.

Dos de los productos no se evaluaron debido a problemas de solubilidad en los vehículos utilizados.

GRUPO DE EVALUACION N° 1.

El análisis de varianza de las moléculas nombradas como productos 11, 5, 4, 14 y el testigo, no detectó efecto de ninguno de los productos en las variables analizadas. (Cuadro N°1)

PRODUCTO	LARGO HOJA cm	PESO AEREO gr/pl	PESO RAIZ gr/pl	EMERGENCIA %
11 (2)	13.57 a	0.00866 a	0.00466 a	91 a
5 (1)	13.46 a	0.00889 a	0.00483 a	87 a
4 (1)	13.43 a	0.00832 a	0.00423 a	94 a
14 (2)	11.25 a	0.00865 a	0.00373 a	84 a
TESTIGO	12.92 a	0.00894 a	0.00463 a	90 a
ANOVA	ns	ns	ns	ns
CV (%)	11	12	20	8

- medias seguidas de igual letra no difieren significativamente ($P > 0.10$)
- (1) pertenece a la familia de derivados de N-OXIDO DE 1,2,5-OXADIAZOL.
- (2) pertenece a la familia de derivados de N-OXIDO DE BENZO [1,2-c]1,2,5-OXADIAZOL.

Cuadro N°1.- Largo de hoja, peso aéreo, peso radicular y porcentaje de emergencia de los productos n° 11, 5, 4 y 14.

Tampoco se pudieron detectar diferencias significativas entre el promedio de los productos y el testigo a través del análisis del contraste planteado.

Estos resultados demuestran que ninguno de los productos analizados afectó la germinación ni el crecimiento y/o desarrollo de las plántulas de trigo.

Tampoco pudo apreciarse visualmente ninguna sintomatología que pudiera indicar algún tipo de efecto.

GRUPO DE EVALUACION N° 2.

Los resultados del anava en este caso detectaron efectos significativos a nivel del porcentaje de germinación y el largo de hoja y ningún efecto sobre las otras dos variables analizadas para las cuales el comportamiento del testigo y cualquiera de los productos ensayados resultó similar. (Cuadro N°2)

PRODUCTO	LARGO HOJA cm	PESO AEREO gr /pl	PESO RAIZ gr /pl	EMERGENCIA %
15(2)	13.28 a	0.013 ^a	0.00362 a	89 b
13(2)	9.88 b	0.011 a	0.00436 a	92 ab
1(1)	13.54 a	0.013 a	0.0050 a	91 ab
10(1)	13.50 a	0.012 a	0.00372 a	95 ab
TESTIGO	14.11 a	0.011 a	0.00421 a	96 a
ANOVA	p= 0.0001	ns	ns	p= 0.07
CV (%)	7	19	5	5

- medias seguidas de igual letra no difieren significativamente ($P > 0.10$)
- (1) pertenece a la familia de derivados de N-OXIDO DE 1,2,5-OXADIAZOL.
- (2) pertenece a la familia de derivados de N-OXIDO DE BENZO [1,2-c]1,2,5-OXADIAZOL.

Cuadro N°2.- Largo de hoja, peso aéreo, peso de raíz y porcentaje de emergencia de los productos n° 15, 13, 1 y 10.

Observando los resultados obtenidos para el test de emergencia puede comprobarse que el único producto que demostrara una actividad significativa en esta variable fue el producto n°15 con una reducción del 7% en relación al testigo. El resto de los productos estudiados presentaron un comportamiento intermedio no difiriendo estadísticamente del testigo ni del producto n° 15.

En relación al resultado encontrado en el caso del largo de la hoja, la reducción de un 30% alcanzada por el producto n° 13 es difícil de

comprender cuando no aparecieran efectos en ninguna de las otras variables de crecimiento o desarrollo ni tampoco en el total de plantas sobrevivientes

Si bien ambas moléculas (productos nº 15 y 13) podrían tener algún tipo de efecto herbicida, parecería como que estarían involucrados mecanismos de acción diferentes.

Además de los efectos comentados se observó hojas retorcidas en el productos nº 15, 13, 1, y 10. En el producto nº10 además fue observado puntas amarillas.

GRUPO DE EVALUACION Nº 3.

Los resultados del ensayo de los productos nº 2 y 3, no evidenciaron diferencias significativas en el número de plantas emergidas, con respecto al testigo. (Cuadro Nº 3)

PRODUCTO	LARGO HOJA cm	PESO AEREO gr/pl	PESO RAIZ gr/pl	EMERGENCIA %
2(1)	9.71 ab	0.0111 a	0,0366 b	84 a
3(1)	6.68 b	0.0103 ab	0.00304 b	81 a
TESTIGO	12.24 a	0.0096 b	0.00862 a	75 a
ANOVA	p= 0.04	p= 0.0001	P= 0.02	Ns
CV (%)	27	9	11	13

- medias seguidas de igual letra no difieren significativamente ($P > 0.10$)
- (1) pertenece a la familia de derivados de N—OXIDO DE 1,2,5-OXADIAZOL

Cuadro Nº 3 – Largo de hoja, peso aéreo, peso de raíz y porcentaje de emergencia de los productos nº 2 y 3.

A diferencia de lo constatado para la emergencia se detectaron efectos significativos de los productos para todas las restantes variables.

Los efectos observados fueron de reducción en el caso del peso de la raíz y la extensión de la hoja mientras que en el caso del peso aéreo lo que se constató fue un incremento en las plantas tratadas, lo cual resulta difícil de explicar.

En relación al peso de raíz, hubo una diferencia clara de ambos productos respecto al testigo, siendo el producto n° 3 el que ocasionó la mayor disminución (65%).

En la variable largo de hoja, que mostrara una tendencia similar sólo el producto n° 3 mostró reducción significativa mientras que el n° 2 presentó un comportamiento intermedio sin diferenciarse del testigo.

En relación a síntomas de actividad herbicida en esta tanda de evaluación fueron observada puntas amarillas en el producto n° 2 y n° 3, y hojas retorcidas en el producto n° 3.

GRUPO DE EVALUACION N° 4.

Del análisis estadístico para estos productos n° 6, 7, 8 y 17 surge que no hubieron diferencias significativas en ninguna de las variables exceptuando el largo de la hoja. (*Cuadro N° 4*)

PRODUCTO	LARGO HOJA cm	PESO AEREO gr/pl	PESO RAIZ gr/pl	EMERGENCIA %
6(1)	10.29 ab	0.00857 a	0.00561 a	82 a
7(1)	9.91 b	0.00868 a	0.00586 a	93 a
8(1)	9.37 b	0.00761 a	0.00564 a	82 a
17(2)	9.18 b	0.00768 a	0.00519 a	81 a
TESTIGO	11.88 a	0.00865 a	0.00659 a	93 a
ANOVA	p= 0.003	ns	ns	Ns
CV (%)	10	23	13	10

- medias seguidas de igual letra no difieren significativamente ($P > 0.10$)
- (1) pertenece a la familia de derivados de *N*-OXIDO DE 1,2,5-OXADIAZOL.
- (2) pertenece a la familia de derivados de *N*-OXIDO DE BENZO [1,2-*c*]1,2,5-OXADIAZOL.

Cuadro N° 4 – Largo de hoja, peso aéreo, peso raíz y porcentaje de emergencia de los productos n° 6, 7, 8 y 17.

De acuerdo a estos resultados los productos 7, 8, y 17 sólo tuvieron un comportamiento herbicida sobre el crecimiento de la hoja. De ellos el 17 fue el que produjo la mayor disminución (23 %), mientras que la molécula n° 6 presentó un comportamiento intermedio. Cabe señalar que el producto 17 aún no presentando efectos significativos ocasionó reducciones en todos los parámetros de crecimiento evaluados.

En este grupo de evaluación, la sintomatología de actividad herbicida observada fueron punta amarillas en los productos nº 7 y nº 8, y hojas necróticas en el producto nº 17.

GRUPO DE EVALUACION Nº 5.

En esta evaluación pudieron detectarse efectos en todas las variables analizadas siendo particularmente destacable la consistencia observada en esta oportunidad en el caso de uno de los productos (el producto nº12). (Cuadro Nº 5)

PRODUCTO	LARGO HOJA cm	PESO AEREO gr/ pl	PESO RAIZ gr/pl	EMERGENCIA %
16(2)	10.47 b	0.00794 b	0.00347 b	90 a
18(2)	6.16 c	0.00473 c	0.00245 c	92 a
12(2)	5.57 c	0.00413 c	0.00178 c	58 b
TESTIGO	12.93 a	0.00992 a	0.00575 a	91 a
ANOVA	p= 0.0001	p= 0.0001	p= 0.0001	p=0.002
CV (%)	13	8	15	12

- medias seguidas de igual letra no difieren significativamente ($P > 0.10$).
- (2) pertenece a la familia de derivados de *N*-OXIDO DE BENZO [1,2-c]1,2,5-OXADIAZOL.

Cuadro Nº 5 – Largo de hoja, peso aéreo, peso de raíz y porcentaje de emergencia de los productos nº 16, 18 y 12 .

Analizando los resultados presentados en el cuadro puede verse que este producto fue el único que además de afectar el crecimiento de las plántulas tuviera efecto significativos en el total de emergencias.

También fue la molécula con la que se alcanzaron las mayores inhibiciones en el largo de hoja: 57%, el peso aéreo: 58 % y peso raíz 70 %. En estas tres variables, resulta destacable la reducción alcanzada por el producto nº18 que aunque estadísticamente el comportamiento de estos dos productos resultó similar.

El producto 16 aún presentando un comportamiento intermedio en este grupo también evidenció efectos fitotóxicos difiriendo del testigo en todas las variables de crecimiento.

El producto nº 12 presentó en esta evaluación hojas retorcidas, en los demás compuestos no se observó ningún tipo de sintomatología que pudiera indicar algún tipo de efecto.

GRUPO DE EVALUACION Nº 6.

En este estudio sólo el producto nº 21 logró disminuciones significativas en la emergencia. (Cuadro Nº 6)

PRODUCTO	LARGO HOJA cm	PESO AEREO gr/pl	PESO RAIZ gr/pl	EMERGENCIA %
21(*)	14.71 a	0.00840 a	0.0151 a	57 b
23(3)	13.88 ab	0.00764 abc	0.0137 a	73 a
22(3)	14.14 ab	0.00827 ab	0.0181 a	71 a
9(1)	14.00 ab	0.00740 bc	0.0134 a	74 a
TESTIGO	13.34 b	0.00716 c	0.0137 a	73 a
ANOVA	p= 0.0257	p= 0.0056	ns	p= 0.028
CV (%)	4	7	26	13

- medias seguidas de igual letra no difieren significativamente ($P > 0.10$)
- (1) pertenece a la familia de derivados de N—OXIDO DE 1,2,5-OXADIAZOL.
- (3) pertenece a la familia de derivados de N,N'-DIOXIDO DE QUINOXALINA.
- (*) compuesto sin N-óxido.

Cuadro Nº 6- Largo de hoja, peso aéreo y peso de raíz de los productos nº 21, 23, 22 y 9.

Fue además el único producto presentando variaciones en relación al testigo en otras características. Las diferencias se evidenciaron en los casos del largo de la hoja y el peso aéreo aunque en este caso constituyeron incrementos del orden de 10 % y 17 % respecto de los valores estimados en las plantas sin tratar.

En el peso radicular ninguno de los productos manifestó acción herbicida sobre las plántulas de trigo.

En esta tanda de evaluación no se realizaron observaciones relativas a sintomatología de daño.

GRUPO DE EVALUACION N° 7.

Los productos 19 y 20 evaluados en esta instancia mostraron claras señales de fitotoxicidad. El producto 19 en particular determinó un alto porcentaje de mortalidad (54%); el más elevado valor encontrado para esta variable en este trabajo. (*Cuadro N° 7*)

PRODUCTO	LARGO HOJA cm	PESO AEREO gr/pl	PESO RAIZ gr/pl	EMERGENCIA %
19(2)	11.14 b	0.00605 b	0.00546 a	43 b
20(2)	11.14 b	0.00629 b	0.00646 a	89 a
TESTIGO	13.80 a	0.00914a	0.00714 a	93 a
ANOVA	p= 0.03	p= 0.0046	ns	P= 0.0009
CV (%)	10	23	17	19

medias seguidas de igual letra no difieren significativamente ($P > 0.10$).

- (2) pertenece a la familia de derivados de *N*-OXIDO DE BENZO [1,2-c]1,2,5-OXADIAZOL.

Cuadro N° 7- Largo de hoja, peso aéreo, peso raíz y porcentaje de emergencia de los productos n° 19 y 20.

El efecto herbicida en este producto se evidenció además en reducciones a nivel del largo de la hoja (20%) y del peso aéreo (45%) en las plantas que lograron sobrevivir. En estas variables también el producto n°20 se diferenció del testigo mostrando similares resultados al producto 19.

En la variable peso de raíz ningún producto difirió significativamente del testigo.

Además de los efectos comentados fueron observadas hojas retorcidas en los compuesto n° 19 y n° 20.

GRUPO DE EVALUACION N° 8

En función de los alentadores resultados obtenidos con el producto n°19 se realizó una nueva evaluación contemplando la evaluación de varias concentraciones del mismo. Como se comentara en Materiales y Métodos se utilizaron concentraciones del 0,2, 2,5 y 3,3% de la dosis original, incluyendo además en el mismo grupo la evaluación de un compuesto nuevo (el compuesto n°24). Los resultados de la misma figuran en el cuadro a continuación (*Cuadro N° 8*)

PRODUCTO	LARGO HOJA cm	PESO AEREO gr /pl	PESO RAIZ gr/pl	EMERGENCIA %
19 (3,3 %)	9.18 c	0.00756 bc	0.0204 ab	42 b
19 (2,5 %)	11.31 bc	0.0124 a	0.0139 b	62 a
19 (0,2%)	11.50 b	0.01035 ab	0.0104 bc	72 a
24(3)	12.54 b	0.0101 b	0.0150 bd	72 a
TESTIGO	16.40 a	0.0119 a	0.0256 a	71 a
ANOVA	P= 0.0001	p= 0.0134	p= 0.0008	P= 0.0005
CV (%)	8	32	30	18

- medias seguidas de igual letra no difieren significativamente ($P > 0.10$).
- (3) pertenece a la familia de derivados de N,N'DIOXIDO DE QUINOXALINA.

Cuadro N° 8- Largo de hoja, pesos aéreo, peso de raíz y porcentaje de emergencia de los productos n° 19 (0,2%), 19 (2,5%), 19 (3,3%) y 24.

Tal como puede observarse en los resultados presentados, el compuesto n° 19 aún a bajas concentraciones mantiene el potencial herbicida comprobado en la determinación anterior. En el caso de los efectos a nivel de la emergencia la permanencia de su comportamiento sólo pudo observarse para la mayor concentración estudiada (3,3%). A esta concentración fue en la que se comprobaron los mayores efectos.

El producto 24 también mostró actividad herbicida, con resultados similares a los obtenidos con las concentraciones más bajas del producto 19 (2,5% y 0,2%) aunque no tuvo efectos en el porcentaje de emergencias.

En el peso aéreo los productos 24 y 19 (3,3%) fueron estadísticamente diferentes del testigo, mientras los productos 19 (2,5%) y 19 (0,2%) tuvieron comportamientos intermedios.

V. ANÁLISIS CONJUNTO DEL TOTAL DE LAS EVALUACIONES

A los efectos de la realización de este análisis se procedió al estudio comparativo de alguno de los compuestos según su origen químico utilizando intervalos de confianza tal como se mencionara en Materiales y Métodos

Los resultados de la evaluación biológica y la relación de la actividad herbicida de los distintos compuestos con su estructura química permiten concluir, que la familia de derivados de N-óxido de 1,2,5-oxadiazol poseen escasa actividad. Solamente algunos de los compuestos, (nº 2, 3, 6, 7, y 8) en algunas de las variables estudiadas, difirieron significativamente con el testigo. Los restantes compuestos de dicha familia fueron inactivos.

Los derivados de la familia N-óxido de benzo[1,2-c]1,2,5-oxadiazol (compuestos del nº 11 al nº 20) presentaron en general mayor actividad herbicida que el grupo de la anterior familia. Este incremento podría explicarse por la integración al sistema 1,2,5 oxadiazol del grupo benzo quien podría estar jugando un rol importante en la actividad biológica. Evidentemente los diferentes efectos electrónicos de esta parte podrían ser responsables de la disimilar actividad; pero la contribución lipofílico – hidrofílico que tiene ese grupo, también puede ser importante, afectando su transporte a través de las biomembranas.

La actividad de los compuestos de este segundo grupo resultó además dependiente a la naturaleza de la sustitución en el benceno lo cual se evidenció en la comparación del compuesto nº 11 con los nº 12, y nº 14 al nº 20. En particular cuando la sustitución fue una amida el aumento de la actividad fue notorio (p.e.:compuestos nº 17 al nº 20). El efecto de la N - sustitución de la amida sobre la actividad herbicida muestra, que la lipoficidad es altamente responsable de ese aumento; por lo que las molécula nº 20 tiene mayor actividad que la nº 18 (IC al 95% en largo de hoja), y la nº 19 es mayor actividad que la nº 17 (IC al 90% en largo de hoja).

Las moléculas de la familia de derivados N,N'-dióxido de quinoxalina (compuestos nº 22 al nº 24) presentaron un comportamiento intermedio entre el grupo 2 y el grupo 1. Comparados al grupo 2, ésto estaría explicado por la ampliación de 2,3-dimetilquinoxalina, lo que provocó la disminución

de la actividad biológica. El compuesto nº 22 tuvo menor comportamiento que el nº15 en porcentaje de emergencia (IC al 95%), mientras que el nº 23 tuvo menor actividad herbicida que el nº 16 en largo de hoja (IC al 95%).

El compuesto nº 21 que no tiene N-óxido tuvo una actividad mayor en un 36% que el producto nº 15 en el porcentaje de emergencia (IC al 95%).

VI. CONCLUSIONES

Los compuestos pertenecientes a la familia de derivados de N-óxido de 1,2,5-oxadiazol mostraron escasa actividad. Solamente algunos de los compuestos, (nº 2, 3, 6, 7, y 8) en algunas de las variables estudiadas, difirieron significativamente con el testigo.

Los derivados de la familia N-óxido de Benzo[1,2-c]1,2,5-oxadiazol (compuestos del nº 11 al nº 20) presentaron en general mayor actividad herbicida que el grupo de la anterior familia. Este incremento se interpretó como resultado de la integración del grupo benzo al sistema 1,2,5 oxadiazol.

La variabilidad en la actividad de los compuestos de la familia N-óxido de benzo[1,2-c]1,2,5-oxadiazol dependió de la naturaleza de la sustitución en el benceno. La sustitución con amida determinó notorios efectos en la actividad biológica.

El producto nº 19 dentro de esta familia fue el que presentó mayor actividad herbicida. En el ensayo de dosis respuesta realizado con el mismo pudo establecerse que mantiene la actividad aún a bajas concentraciones pese a que las mejores respuestas se obtuvieron con la mayor concentración estudiada (3,3 % de la dosis original).

Las moléculas de la familia de derivados N,N'-dióxido de quinoxalina presentaron un comportamiento intermedio.

De los ensayos primarios en preemergencia se puede concluir que los compuestos de la familia derivados de N-óxido de benzo(1,2-c)1,2,5-oxadiazol fueron los más activos. Aparentemente la presencia de la fracción N-óxido sería la responsable de esta actividad, estando involucrados en la misma los efectos electrónicos y el balance lipofílico-hidrofílico de estos compuestos.

VII. RESUMEN

Del estudio de la combinación en una sola molécula de dos grupos químicos responsables de acción fitotóxica herbicida, atrazinas y bupiridilos; se obtuvieron tres familias de compuestos derivados : N-óxido de 1,2,5-oxadiazol, N-óxido de benzo [1,2,c]1,2,5-oxadiazol y del N,N'-dióxido de quinoxalina.

Este trabajo tuvo como objetivo estudiar el potencial fitotóxico de dichos compuestos a través de pruebas biológicas, las cuales se realizaron en cámaras de crecimiento, en preemergencia sobre semillas de *Triticum aestivum* L.

Los resultados obtenidos indicaron que la familia de N-óxido de benzo[1,2,c]1,2,5-oxadiazol fue la que tuvo mayor actividad herbicida. Esta mayor actividad estuvo aparentemente determinada por la presencia de la fracción N-óxido y estaría asociada a los efectos electrónicos y a la naturaleza del balance lipofílico-hidrófilico de los compuestos. Un comportamiento intermedio dieron los derivados de N,N'-dióxido de quinoxalina.

La molécula nº 19 que pertenece a la primer familia, tuvo un buen comportamiento herbicida. A la misma se le realizó un estudio de dosis respuesta, el cual mostró que mantuvo su comportamiento herbicida aún con bajas dosis (0.2,y 2,5% de la dosis original).

VIII. SUMMARY

From a study about the combination in only one molecule of two chemical groups responsible for the phytotoxic herbicidal action, atrazines and bipyridinium, there were obtained three derivated compounds families: 1-2-5 oxadiazole N-oxide, benzo [1,2-c]1,2,5-oxadiazole N-oxide and quinoxaline di-N-oxide.

The objective of this work was to study the phytotoxic potential of the mentioned compounds, through some biological tests, which were done in growth chambers, in pre-emergence of *Triticum aestivum* seeds.

The results obtained indicated that the benzo [1,2-c]1,2,5-oxadiazole N-oxide family had the highest herbicidal activity. It seems that this highest activity was determined by the N-oxide fraction and it would be associated to the electronic effects and to the lipophilic-hydrophilic balance nature of the compounds. The quinoxaline di-N-oxide derivates had an intermediate behaviour.

The N° 19 molecule, that belongs to the first family, has a good herbicidal activity. On this, it was done a response doses study, which showed that it maintained its herbicidal behaviour, even with small doses (0.2 and 2.5 of the original doses)

IX. BIBLIOGRAFIA

1. ASHTON, FLOYD; CRAFTS, ALDEN. 1981. Mode of action of herbicides. 2^a. ed. New York. Wiley. p.p.15-18; 164- 179.
2. CERECETTO, H.; DI MARIO, R.; GONZALEZ, M.; RISSO, M.; SAENZ, P.; DENICOLA, A.; PELUFFO, G.; QUIJANO, C.; ZINOLA, F.; OLEA-AZAR, C. 1999. 1,2,5-Oxadiazole *N*-oxide derivatives and related compounds as potential antitrypanosomal drugs. Structure-activity relationship. *J. Med. Chem.* 42: 1941-1950.
3. CERECETTO, H.; DI MAIO, R.; IBARRURI, G.; SEOANE, G.; DENICOLA, A.; PELUFFO, G.; QUIJANO, C.; PAULINO, M. 1998. Synthesis and anti-trypanosomal activity of novel 5-Nitro-2-furaldehyde and 5-Nitrothiophene-2-carboxaldehyde semicarbazone derivatives. *Farmaco.* 53(2): 89-94.
4. EDWARDS, M.L.; BAMBURY, R.E. 1975. 2,3-Dimethylquinoxaline-6-carboxaldehyde 1,4-dioxide. *J. Heterocyclic Chem.* 12(5): 835-836.
5. EUSSEN, J; THUS, J; WELLINGA, K; STORK, B. 1990. Pyrazolines with Herbicidal Activity *Pestic.Sci.*, 29: 101-108.
6. FRUTTERO, R.; FERRAROTTI, B.; SERAFINO, A.; DI STILO, A. GASCO, A. 1989. Unsymmetrically substituted furoxans. Part 11[1]. Methylfuroxancarbaldehydes. *J. Heterocyclic Chem.* 26: 1345-1347.
7. GASCO, A.M.; FRUTTERO, R.; SORBA, G.; GASCO A. 1991. Phenylfuroxancarbaldehydes and related compounds. *Liebigs Ann. Chem.*: 1211-1213
8. KLESCHICK, W; COSTALES, M; DUNBAR, J; MEIKLE, R.; MONTE, W., PEARSON, S; VINOGRADOFF, A. 1990. New Herbicidal Derivates of 1,2,4-triazolo [1,5-*a*] pyrimidine. *Pestic. Sci.* 29: 341-355.
9. KOGAN, M. 1993. Manejo de Malezas en Plantaciones Frutales. Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile. p.p. 125-144.
10. MONGE, A.; LÓPEZ DE CERÁIN, A.; EZPELETA, O.; CERECETTO, H.; DIAS, E.; DI MAIO, R.; GONZÁLEZ, M.; ONETTO, S.; SEOANE, G.; SUESCUN, L.; MARIEZCURRENA, R. 1998^a. Synthesis and

biological evaluation of 1,2,5-oxadiazole *N*-oxide derivatives as hypoxia-selective cytotoxins. *Die Pharmazie* . 53: 758-764.

11. MONGE, A.; LÓPEZ DE CERÁIN, A.; EZPELETA, O.; CERECETTO, H.; DIAS, E.; DI MAIO, R.; GONZÁLEZ, M.; ONETTO, S.; RISSO, M.; SEOANE, G.; ZINOLA, F.; OLEA-AZAR C. 1998. 1,2,5-Oxadiazole *N*-oxide derivatives as hypoxia-selective cytotoxins. Structure-activity relationships. *Die Pharmazie*. 53: 698-702.
12. MONGE, A.; PALOP, J.A.; LÓPEZ DE CERÁIN, A.; SENADOR, V.; MARTÍNEZ-CRESPO, F.J.; SÁINZ, Y.; NARRO, S.; GARCÍA, E.; DE MIGUEL, C.; GONZÁLEZ, M.; HAMILTON, E.; BARKER, A.J.; CLARKE, E.D.; GREENHOW, D.T. 1995. Hypoxia-selective agents derived from quinoxaline 1,4-di-*N*-oxides. *J. Med. Chem.* 38: 1786-1792.
13. MORI, I; FONNE-PFISTER, R; MATSUNAGA, S; TADA, S; KIMURA, Y; IWASAKI, G; MANO, J; HATANO, M; NAKANO, T; KOIZUMI, S; SCHEIDEGGER, A; HAYAKAWA, K; OHTA D. 1995. *Plant Physiol*,107(3): 719-722.
14. COPPING, L; HEWWITT, H; ROWE, R.. 1995. Evaluation of a new herbicide. In. *Weed control Handbook: Principles*. Edited by RJ Hance and K. Holly. pp. 261-299.
15. AGROCHEMICALS. 1991. Preparation and Mode of action. R.J. Cremlyn. Wiley & Sons. Guildfordsurrey. England. p.p 217- 270.
16. RIBAS, A..1997. Herbicidas: Mecanismos de ação e resistência de plantas. Porto Alegre. Facultad de Agronomia da UFRGS. p.p. 55-60 , 114-115.
17. SMITH, P.A.S.; BOYER, J.H.1963. *Organic Syntheses Collective*. Ed. Norman Rabjohn. New York. John Wiley & Sons Inc. V.4, pp. 75-78.

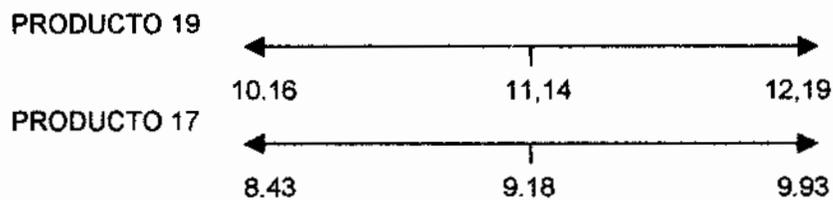
X. ANEXO

Para el cálculo de los Intervalos de Confianza que se realizaron para los contrastes entre productos de diferentes corridas (experimentos), se utilizó la siguiente función:

$$IC = X \pm t \sqrt{\text{varianza}/n^{\circ} \text{repeticiones}}$$

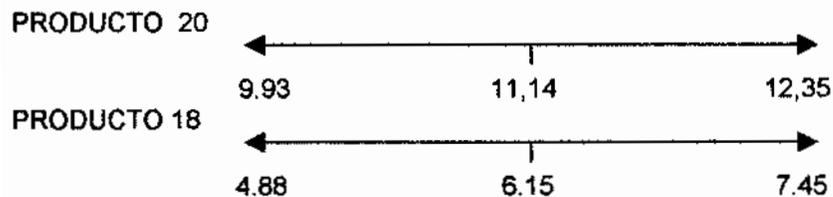
1.

Largo de hoja (Intervalo confianza al 90%)

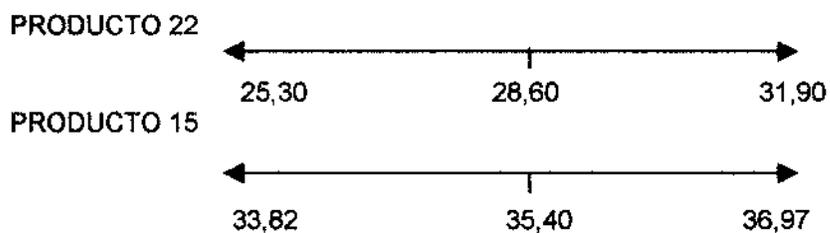


2.

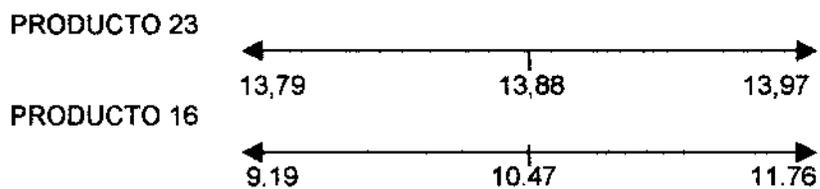
Largo de hoja (Intervalo confianza al 95%)



3.

Porcentaje de emergencia (Intervalo confianza al 95%)

4.

Largo de hoja (Intervalo confianza al 95%)

5.

Porcentaje de germinación (Intervalo confianza al 95%)