

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS
LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

INFORME DE ACTIVIDADES DE SERVICIO SOCIAL

Título del Proyecto

Efecto fitotóxico de compuestos orgánicos de origen natural y sintético

Alumna: Norma Jimena González Rentería **Matrícula:** 2203019249

Asesores: Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa 

Dr. Jaime Pérez Villanueva 

Lugar de realización: Universidad Autónoma Metropolitana,
Departamento de Sistemas Biológicos, Laboratorio de Síntesis y
Aislamiento de Sustancias Bioactivas.

Fecha de inicio: 06/02/24

Fecha de término: 06/08/24

Índice

Resumen.....	3
1. Introducción	4
2. Objetivos.....	5
General	5
Específicos.....	5
3. Antecedentes.....	6
Alelopatía	6
Fitotoxicidad	7
Bioensayos.....	7
El Género <i>Tagetes</i> como fuente de cumarinas bioactivas	8
Indazoles.....	10
4. Materiales y Métodos	11
4.1 <i>Evaluación del efecto inhibitorio de la germinación y el crecimiento radicular en caja Petri</i>	11
5. Resultados.....	12
5.1 <i>Evaluación del efecto concentración-respuesta del herbicida comercial Rival®</i>	12
5.2 <i>Evaluación del efecto concentración-respuesta de J186 sobre semillas de alfalfa, amaranto y jitomate.</i>	13
5.3 <i>Evaluación del efecto concentración-respuesta de J187 sobre la maleza <i>M. sativa</i></i>	17
5.4 <i>Evaluación del efecto fitotóxico de la cumarina Herniarina sobre <i>M. sativa</i></i>	18
5.5 <i>Evaluación del efecto fitotóxico de la cumarina Escoparona sobre <i>M. sativa</i></i>	19
6. Discusión	21
7. Conclusiones.....	27
8. Referencias.....	28
9. Anexos	32

Resumen

Este documento reporta los resultados de la evaluación del efecto fitotóxico potencial de cuatro compuestos orgánicos heterocíclicos, dos cumarinas aisladas de la especie *Tagetes lucida* (Herniarina y Escoparona) y dos moléculas de origen sintético con el núcleo indazol (claves J186 y J187), empleando el bioensayo de germinación y crecimiento radicular de las semillas de alfalfa (*Medicago sativa*), amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) y jitomate (*Solanum lycopersicum*), estos resultados se compararon con el herbicida comercial Rival®. Para el cálculo de las concentraciones inhibitorias medias (CI₅₀) se construyeron las gráficas concentración respuesta y se obtuvieron las regresiones lineales.

Los resultados muestran que el herbicida comercial presenta una CI₅₀ de 550.44 ppm en *M. sativa*. Para el compuesto J186, se calculó una CI₅₀ de 1291.1 ppm, mientras que para J187 el valor encontrado fue de 861 ppm. Lo anterior nos indica que la modificación estructural sobre el núcleo indazol generó una pérdida en el efecto fitotóxico con respecto al herbicida comercial. De la misma forma, se evaluó al compuesto 186 sobre la maleza *A. hypochondriacus*, donde el valor de CI₅₀ fue de 149.83 ppm que comparado con el efecto del mismo herbicida comercial sobre dicha maleza (125.4 ppm; Sampedro, 2023), se observa que su actividad es equiparable. También, fue necesario evaluar el potencial efecto de estos compuestos sobre alguna especie de interés comercial, como el jitomate (*Solanum lycopersicum*); el compuesto J186 demostró un efecto inhibitorio del 100% de la germinación a las concentraciones de 200 y 400 ppm. Este resultado no es alentador ya que nos indica que no hay selectividad en el efecto fitotóxico.

Por otro lado, los resultados de la evaluación del efecto fitotóxico de las dos cumarinas simples sobre *M. sativa*, arrojaron que la Herniarina (CI₅₀ = 72.93 ppm) y la Escoparona (CI₅₀ = 316.8 ppm) fueron 7.5 y 1.7 veces más potente que el herbicida comercial®, respectivamente.

A partir de este tipo de investigaciones es posible aportar alternativas provenientes de compuestos sintéticos y productos naturales con una potencial aplicación a cultivos de interés comercial para limitar el efecto de malezas en la producción agrícola. De este modo se cuenta con opciones más sostenibles y menos contaminantes, reduciendo así los efectos adversos que poseen muchos de los herbicidas sintéticos que existen actualmente en el mercado.

1. Introducción

El uso indiscriminado de herbicidas sintéticos ha generado problemas de contaminación en suelo, atmósfera y agua. Como una alternativa sostenible, se ha considerado el uso de bioherbicidas, constituidos principalmente por sustancias naturales que se pueden obtener a partir de extractos vegetales que contienen sustancias fitotóxicas y que podrían ofrecer una solución más amigable con el medio ambiente.

Si bien, los herbicidas sintéticos se utilizan por su fácil, rápido y económico manejo, su aplicación excesiva atenta contra la biodiversidad y la salud humana, por lo que de ninguna manera resulta sostenible el manejo como hasta el momento se han venido desarrollando. Cada vez se genera una mayor dependencia de modelos agroindustriales, ya que se hace necesario el uso de concentraciones cada vez más altas para eliminar las malezas que, a su vez, desarrollan mecanismos de adaptación y resistencia a las altas concentraciones de dichos herbicidas, provocando que los agroquímicos sean menos eficaces y que incluso se usen combinaciones de varios compuestos (CONACYT, 2020).

Es importante destacar que siempre hay riesgo de que se presenten problemas aún en los productos menos tóxicos. En la mayoría de los casos, los problemas de toxicidad en el ambiente se magnifican si el uso de la sustancia no se hace en forma adecuada o siguiendo las indicaciones de los fabricantes. Debido a todos los problemas existentes es necesario intensificar la búsqueda de nuevos herbicidas efectivos y para lograrlo es necesaria la constante investigación por parte de institutos y universidades que puedan contribuir para corregir el destino del medio ambiente. De acuerdo con esto y teniendo en cuenta que México es un país rico en flora, es factible realizar estudios con muchas plantas y compuestos aislados de las mismas.

Aquí es donde juega un papel importante la alelopatía pues se refiere a los efectos directos de un compuesto químico (metabolito secundario o aleloquímico) secretado por una planta o microorganismo sobre el crecimiento, desarrollo y distribución de otras plantas en sistemas agrícolas. Dichos compuestos producidos y liberados son conocidos como aleloquímicos, asimismo, existen dos tipos de alelopatía, positiva y negativa, en las cuales una tiene efectos beneficiosos y la otra efectos perjudiciales, respectivamente (Narwal y Sampietro, 1994).

Lo anterior, se lleva a cabo por la liberación de sustancias a través de la lixiviación parcial de la planta, exudación de raíces, evaporación, descomposición residual, entre otros procesos, como mecanismo de defensa contra el ataque de microorganismos, predadores herbívoros o por competencia de otras plantas.

Esta característica ha merecido, por parte de la comunidad científica, cada vez más atención debido a las posibilidades que ofrece como estrategia de control de malezas, motivo por lo cual el presente estudio plantea evaluar el efecto fitotóxico de dos productos

naturales de tipo cumarina (Herniarina y Escoparona) y dos compuestos de tipo 3-fenilindazol de origen sintético (claves J186 y J187), en el modelo de inhibición del crecimiento radicular de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) y alfalfa (*Medicago sativa*) en caja Petri.

2. Objetivos

General

- Evaluar el potencial fitotóxico de dos compuestos de origen natural (Herniarina y Escoparona) y dos de origen sintético (claves J186 y J187), sobre dos malezas.

Específicos

- Realizar las curvas de concentración-respuesta de los cuatro compuestos en estudio sobre las dos malezas.
- Determinar las concentraciones inhibitorias medias (CI_{50}) de los cuatro compuestos.
- Comparar su potencia con el producto de referencia -Glifosato®.

3. Antecedentes

Alelopatía

El fenómeno de la alelopatía ha sido descrito en documentos que datan de unos cuantos siglos A. C. Un documento tan antiguo como del año 300 A.C., relata que muchas plantas cosechadas (chícharo, cebada, frijol forrajero) destruyeron malas hierbas e inhibieron el crecimiento de otras cosechas. La alelopatía se refiere a los efectos directos de un compuesto químico (metabolito secundario) secretado por una planta, microorganismos, virus u hongos, sobre el crecimiento, desarrollo y distribución de otras plantas o microorganismo en comunidades naturales o sistemas agrícolas (Narwal y Sampietro, 1994).

El término alelopatía (del griego allelon = uno al otro, del griego pathos = sufrir; efecto injurioso de uno sobre otro) fue utilizado por primera vez por Molisch (1937) para referirse a los efectos perjudiciales o benéficos, que son ya sea directa o indirectamente, el resultado de la acción de compuestos químicos que, liberados por una planta, ejercen su acción en otra. Siguiendo esta definición en todo fenómeno alelopático existe una planta que libera al medio ambiente por una determinada vía (por ej. lixiviación, descomposición de residuos, etc.) compuestos químicos los cuales al ser incorporados por otra planta (receptora) provocan un efecto perjudicial o benéfico sobre germinación, crecimiento o desarrollo de esta última. Los compuestos citados que desencadenan el proceso se denominan compuestos, agentes o sustancias alelopáticas. (Sampietro, 2001).

La definición abarca tanto los efectos perjudiciales como benéficos. Es necesario puntualizar que muchas sustancias con actividad alelopática tienen efectos benéficos a muy bajas concentraciones y, superado un determinado umbral, actúan negativamente sobre la planta receptora. Aun así, predomina en la literatura especializada la descripción de efectos negativos. En la literatura, a veces, al analizar las interacciones entre plantas superiores existe cierta confusión en el uso de los términos alelopatía y competencia. Algunos biólogos han considerado que la alelopatía es parte de la competencia. La competencia entre plantas involucra la reducción en la disponibilidad de algún factor del entorno, debido a su utilización por un individuo vegetal, que es requerido también por otra planta que comparte el mismo hábitat. Entre estos factores se encuentra el agua, los nutrientes minerales y la luz (Sampietro, 2001).

En cambio, la alelopatía implica la liberación al entorno por parte de una planta de un compuesto químico que ocasiona un efecto sobre otra. Por tanto, el efecto detrimental en crecimiento y desarrollo en la competencia es debido a la reducción en la disponibilidad de recursos comunes, mientras que en la alelopatía tiene su origen en compuestos químicos liberados por una planta que afectan a otra. Estos conceptos son diferentes entre sí pero desde un punto de vista ecofisiológico se pueden considerar estrechamente ligados y complementarios en su efecto. Para evitar confusiones se utiliza el término interferencia para designar al efecto total de una planta sobre otra, es decir, la

suma de efectos debidos a los fenómenos de competencia y alelopatía (Sampietro, 2001).

Estos compuestos pueden ser clasificados de acuerdo con sus propiedades en: ácidos orgánicos solubles en agua, alcoholes de cadena lineal, aldehídos alifáticos y cetonas; lactonas simples insaturadas; ácidos grasos de cadena larga y poli acetilenos; quinonas; fenoles; ácido cinámico y sus derivados; cumarinas: flavonoides; taninos; esteroides y terpenos (Li., et al, 2010).

Fitotoxicidad

La fitotoxicidad es el proceso en el retraso de la germinación, así como la inhibición del crecimiento de las plantas o cualquier efecto negativo causado por las llamadas fitotoxinas. Estas son metabolitos secundarios los cuales se encargan de la inducción de un proceso que interfiere con la fisiología de las plantas, son de bajo peso molecular y suelen causar la muerte de la planta en concentraciones menores de 10 μM . Es debido a estas bajas concentraciones que las fitotoxinas hacen posible sean consideradas como potenciales herbicidas naturales efectivos. Dichas moléculas pueden provenir de distintas fuentes como plantas (monoterpenos, sesquiterpenos, entre otros) y microorganismos (Zicola, 2016).

Bioensayos

Para identificar y cuantificar la presencia y el efecto de una fitotoxina se debe de realizar ensayos sobre especies vegetales identificadas como malezas, así como plantas de interés económico, con la finalidad de identificar su selectividad. Se definen como la evaluación de la potencia de un compuesto a través de su respuesta inducida por la aplicación al sujeto (Webster, 1980).

La mayoría de los bioensayos alelopáticos que se correlacionan con los estudios fitoquímicos evalúan la bioactividad al afectar la germinación y el crecimiento de las plántulas (Steffens et al., 1986; Shilling y Yoshikawa, 1987).

Estos parámetros se aceptan como medidas indirectas de otros procesos fisiológicos afectados por la interacción química. De esta manera, se cubre una amplia gama de efectos, y dichos bioensayos sirven para seleccionar compuestos que se puedan evaluar en estudios de invernadero y de campo. En sentido estricto, el uso de semillas de malezas como bioensayo implica el uso de aleloquímicos sólo como herbicidas. Sin embargo, el uso de semillas de cultivos comerciales da lugar a un modelo más general, especialmente con respecto a los efectos estimulantes. Este último evita algunos de los problemas más comunes que implica el uso de especies silvestres. En primer lugar, las especies silvestres son genéticamente más heterogéneas que los cultivos comerciales, y su crecimiento en condiciones de laboratorio es impredecible. La viabilidad de las semillas depende de muchas condiciones y tienen diversos grados de sensibilidad a

tratamientos similares en diferentes momentos. En segundo lugar, muchas semillas de malezas no germinan de manera uniforme (King, 1966; Cutler y Cole, 1983).

El Género *Tagetes* como fuente de cumarinas bioactivas

En México, se considera un centro de distribución de varias especies de este género, que son empleadas como medicinas tradicionales; se utilizan por sus propiedades analgésicas, antisépticas, carminativas, diuréticas, estimulantes y repelentes de insectos. Se les conoce comúnmente por el nombre de caléndulas, pero en cada zona del país donde se distribuyen pueden tener un nombre distinto, las especies más conocidas son *Tagetes erecta*, *T. patula*, *T. minuta* y *T. lucida* (Singh et al., 2016).

El género *Tagetes* cuenta con aproximadamente entre 50 a 55 especies, distribuidas ampliamente en el territorio nacional y cerca del 40% de las especies de este género se encuentran en México (García et al., 2012).

En la medicina tradicional mexicana, *T. lucida* se prescribe para los "nervios" y el "susto". Existen varios usos menores en el tratamiento de los sistemas gastrointestinal, respiratorio y urogenital, contra el reumatismo, las úlceras y la inflamación. Además, *T. lucida* se recomienda como estimulante del sistema inmunitario, la decocción de sus partes aéreas se emplea para combatir las infecciones causadas por algunos helmintos y protozoos (por ejemplo, ascaridiasis y giardiasis). (Salehi., et al, 2018).

En la figura 1 y 2 se muestran algunos ejemplos de cumarinas aisladas de especies del género *Tagetes*. *T. lucida*, conocida como "pericón", es una planta medicinal utilizada desde tiempos precolombinos por los aztecas y otras culturas mesoamericanas. Esta especie se distribuye desde el norte de México hasta el norte de Nicaragua. Sus hojas y flores se utilizan para el tratamiento del dolor de estómago y para el tratamiento de diversas dolencias inflamatorias. Los extractos y compuestos de esta planta tienen actividad inhibitoria sobre la germinación, la respiración y el crecimiento de las plántulas.

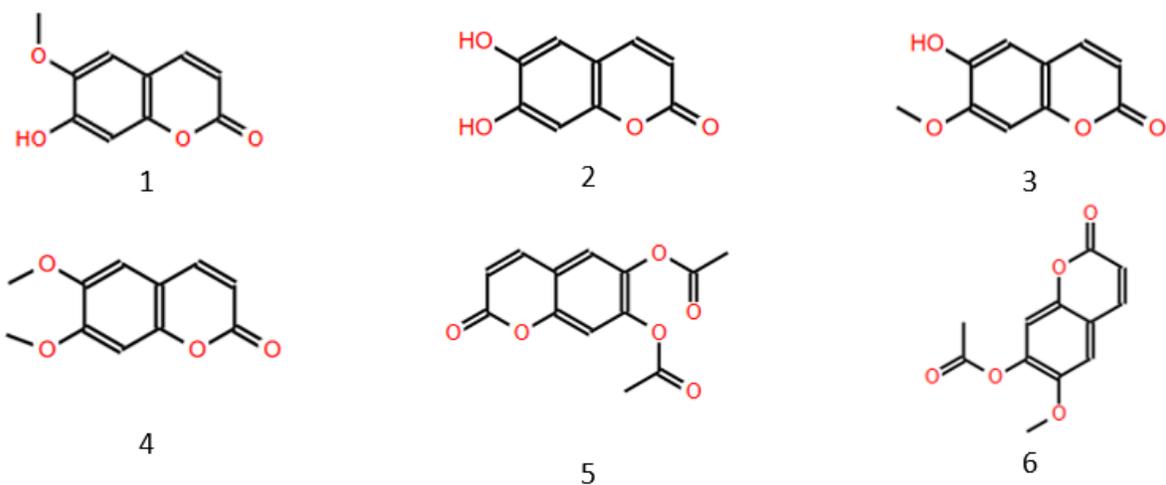


Figura 1. Cumarinas y derivados de especies de *Tagetes* (Asteraceae). (Céspedes., et. al, 2006).

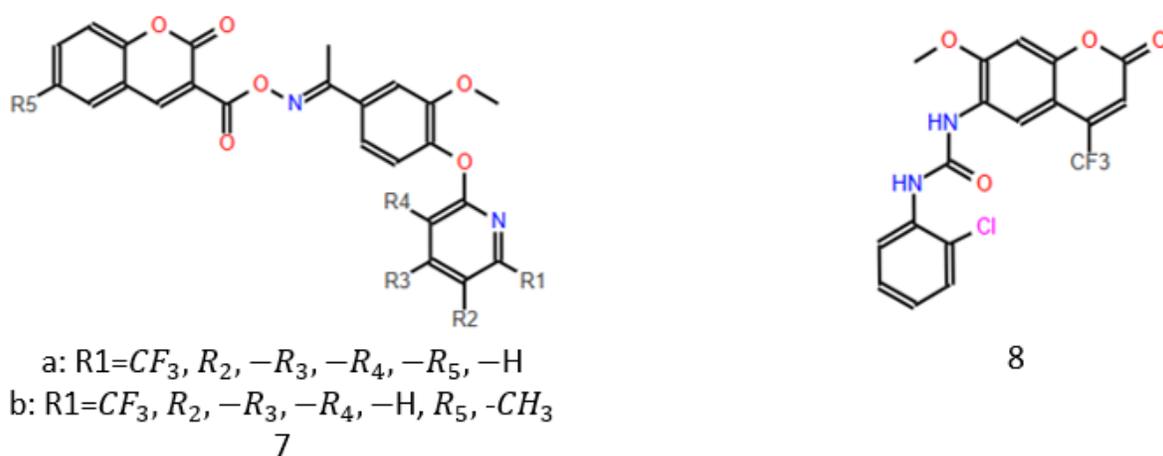


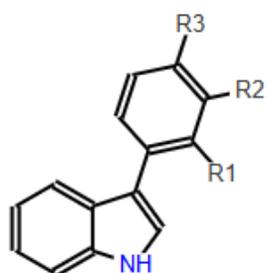
Figura 2. Núcleo cumarina modificado para la potencialización de su actividad herbicida (Xing., et. al, 2024).

Indazoles

Los derivados del indazol poseen una variedad de actividades biológicas, como analgésico, antiinflamatorio (Bistochi., et. al, 1981; Cerecetto., et. al, 2005), antipirético (Mosti., et. al, 1988), antiemético (Rodgers., et. al, 1996), antidepresivo, anticancerígeno (Keppler y Hartmann, 1994, Sutherlin., et. al, 2010) y actividades anti-VIH (Bermúdez., et. al, 1990).

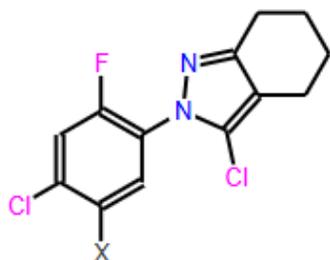
El núcleo 1*H*-indazol es un herbicida y se comporta como un inhibidor del crecimiento (Nagano., et. al, 1985; Saito., et. al, 1986). Este núcleo y sus derivados muestran inhibición cuando se aplican en el suelo antes o después de la germinación de las semillas, esta inhibición puede ser útil para eliminar malezas no deseadas en campos de arroz. Tienen un alto poder herbicida, especialmente sobre malezas de hoja ancha como *Lindernia procumbens*, *Rotala indica*, *Elatine triandra* y las malezas gramíneas, como *Echinochloa oryzicola*.

En la figura 3 y 4 se muestra el núcleo indazol y las modificaciones estructurales a las que fue sometido para obtener compuestos mas efectivos con el objetivo de potenciar su efecto fototoxico el cual ya se ha demostrado con anterioridad.



- 5c** $R^1, R^3 = H, R^2 = CH=CH$
- 5e** $R^1, R^2 = H, R^3 = Cl$
- 5f** $R^1 = NO_2, R^2, R^3 = H$
- 5i** ($R^1 = H, R^2 = OCH_2, R^3 = OCH_2$)

Figura 3. Síntesis de una serie de 3-aryl-1*H*-indazoles y sus efectos sobre el crecimiento de las plantas. Chattha y colaboradores (2013).



- 3a** R=Ph
- 3h** R=CN

Figura 4. Estructura general de los fenil-4,5,6,7-tetrahidro-2*H*-indazoles sustituidos. Taek y colaboradores (2004).

4. Materiales y Métodos

4.1 Evaluación del efecto inhibitorio de la germinación y el crecimiento radicular en caja Petri

La determinación del potencial fitotóxico de los compuestos de prueba se realizó mediante el bioensayo de germinación y crecimiento radicular de semillas de *A. hypochondriacus* o *M. sativa* en caja Petri.

Previo al bioensayo, las semillas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante cinco minutos y, posteriormente, se lavaron con suficiente agua hasta eliminar por completo la solución desinfectante. El bioensayo se realizó en cajas Petri de vidrio de 5 cm de diámetro cubiertas con círculos de papel filtro del mismo diámetro.

Brevemente, de cada compuesto, se preparan soluciones en el intervalo de concentraciones de 0.97 a 1000 ppm en un solvente orgánico volátil adecuado, según la solubilidad de cada compuesto (diclorometano, acetona y/o etanol). Enseguida, un mL de las disoluciones preparadas de cada compuesto se vertió sobre el disco de papel filtro de 5 mm dentro de las cajas Petri, permitiendo enseguida la evaporación del disolvente mediante una corriente de aire. Posteriormente, se adicionó un mL de agua destilada sobre el papel filtro y se colocaron 10 semillas desinfectadas de la maleza de prueba. Las cajas Petri se sellaron con Parafilm® y se dejaron a temperatura ambiente.

La actividad fitotóxica se registró calculando el porcentaje de germinación e inhibición, midiendo la longitud de las radículas a las 48 o 72 horas del tratamiento, según la maleza usada. Los ensayos se realizaron por triplicado, como blanco se utilizó agua y como control positivo RIVAL® (glifosato, C₃H₈NO₅P) en el intervalo de 1 a 5 mg/mL en agua. El análisis estadístico se realizó con el programa Prism GraphPad.

Por último, se construyeron las gráficas de dosis-respuesta para cada compuesto con la finalidad de identificar y calcular la concentración inhibitoria media (CI₅₀) a partir de la linealidad y la ecuación de la recta ($y = mx + b$), despejándola de la siguiente manera cuando $Y = 50$:

$50 = mx + b$; despejando x (CI₅₀)

$$X = \frac{50 - b}{m}$$

Donde:

m = Pendiente,

b = Intersección y

50= Efecto inhibitorio al 50%

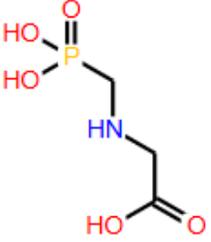
5. Resultados

5.1 Evaluación del efecto concentración-respuesta del herbicida comercial Rival®

En primera instancia se realizaron ensayos únicamente utilizando semillas de alfalfa (*Medicago sativa*), donde se registraron datos del crecimiento radicular después de 72 horas de germinación a temperatura ambiente (25°C). En la tabla 1, se describen los resultados obtenidos del promedio de tres ensayos usando las mismas concentraciones del Glifosato, condiciones y tiempo.

En la figura 2 se muestra la medición de radículas de algunas semillas del experimento y, con el objetivo de validar su eficacia en el bioensayo, en la figura 3 se muestra el trazado, así como la ecuación para calcular la CI_{50} sobre esta maleza, que fue de 773.925 ppm.

Tabla 1. Determinación de la CI_{50} del glifosato sobre semillas de *M. sativa* en el modelo de caja Petri

Semillas de alfalfa	Concentraciones (ppm)	Crecimiento radicular (mm)	Desviación estándar	% Inhibición
Viabilidad	Agua	22.90	3.739	-
Rival 	2500	5.7	1.104	75.10
	1250	8.98	0.828	60.77
	625	11.01	0.847	51.89
	312.5	13.56	1.974	40.75
	156.25	15.46	1.999	32.45
	78.12	17.4	0.817	24.01
	39.06	18.28	0.587	20.16

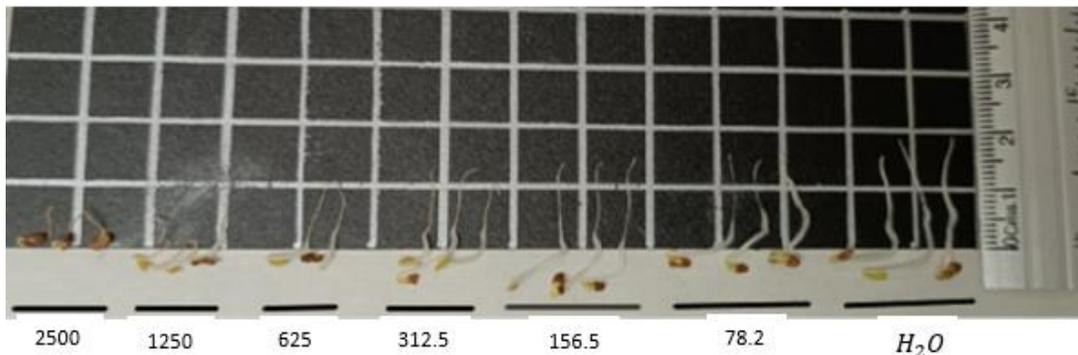


Figura 2. Medición de la radícula de semillas selectas de cada concentración de glifosato.

A partir del cálculo correspondiente se obtuvo una CI_{50} de 550.44 ppm.

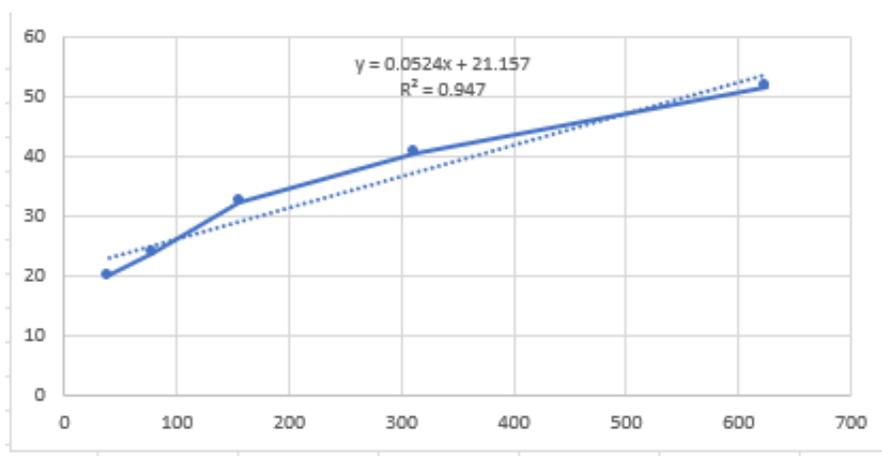
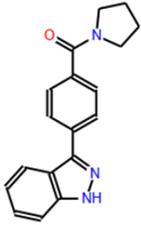


Figura 3. Gráfico de concentración (ppm) vs % de inhibición del glifosato sobre la maleza *M. sativa*.

5.2 Evaluación del efecto concentración-respuesta de J186 sobre semillas de alfalfa, amaranto y jitomate.

De igual modo, para el compuesto J186 se reporta en la tabla 3 el efecto fitotóxico sobre *M. sativa*.

Tabla 2. Determinación de la CI_{50} del compuesto J186 sobre semillas de *M. sativa* en el modelo de caja Petri

Semillas de alfalfa	Concentraciones (ppm)	Crecimiento radicular (mm)	Desviación estándar	% Inhibición
Viabilidad	Agua	29.33	1.721	-
J186 	1000	21.80	0.624	25.68
	794	22.47	0.611	23.40
	630	24.67	0.404	15.90
	501	26.27	1.320	10.45
	398	28.73	2.706	2.04

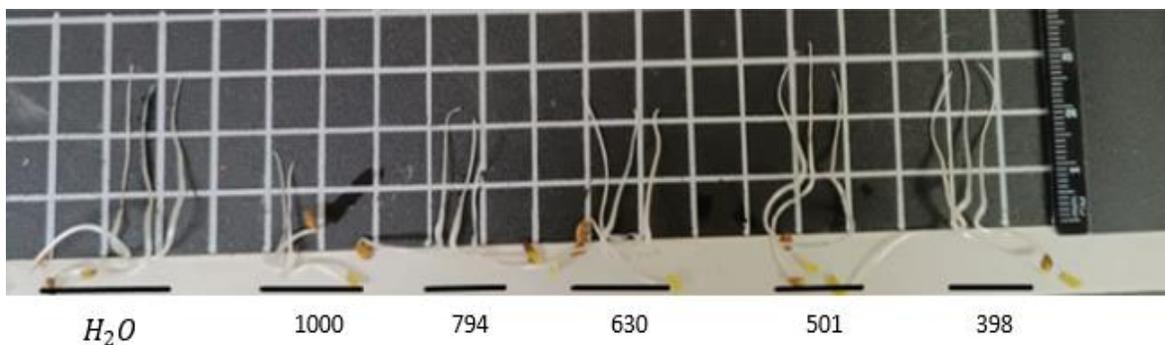


Figura 4. Medición de la radícula de semillas selectas de cada concentración de J186
A partir del cálculo correspondiente se estimó una CI_{50} de 1291.1 ppm.

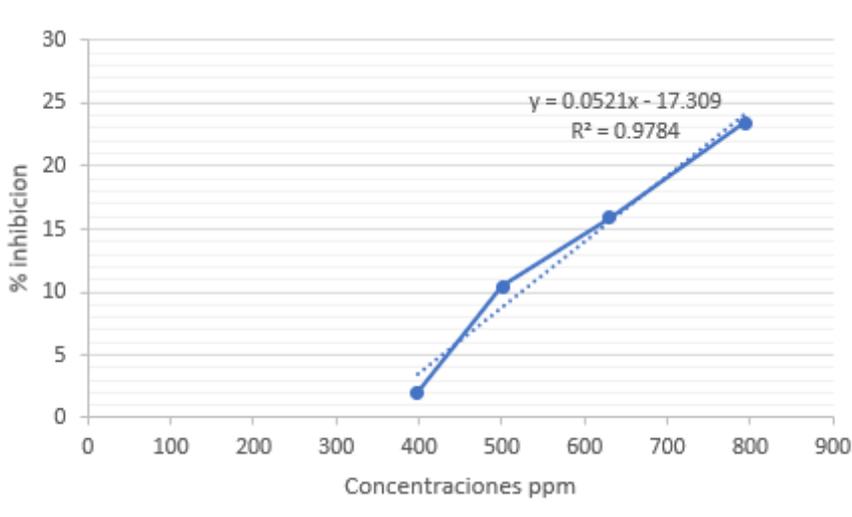
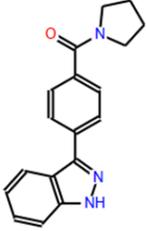


Figura 5. Gráfico de concentración (ppm) vs % de inhibición del J186 sobre la maleza *M. sativa*.

Este mismo compuesto se evaluó en semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*), por tanto, este se probó utilizando las mismas concentraciones que con alfalfa (tabla 2). Es necesario puntualizar que las semillas de amaranto germinan adecuadamente en condiciones de incubación a 34°C luego de 48 horas.

Tabla 3. Determinación de la CI_{50} del compuesto J186 sobre semillas de *A. hypochondriacus* en el modelo de caja Petri

Semillas de amaranto	Concentraciones (ppm)	Crecimiento radicular (mm)	Desviación estándar	% Inhibición
Viabilidad	Agua	24.37	1.656	-
J186 	1000	11.30	1.100	53.62
	794	17.03	1.222	30.09
	630	20.77	0.550	14.77
	501	23.07	0.945	5.33
	398	23.87	0.416	2.05

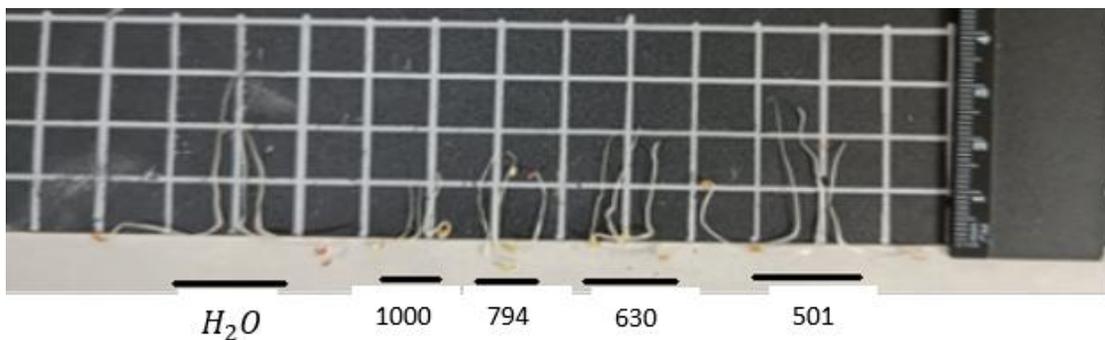


Figura 6. Medición de la radícula de semillas selectas de cada concentración de J186 en las semillas de *A. hypocondriacus*.

A partir del cálculo correspondiente se obtuvo una CI_{50} de 977.88 ppm.

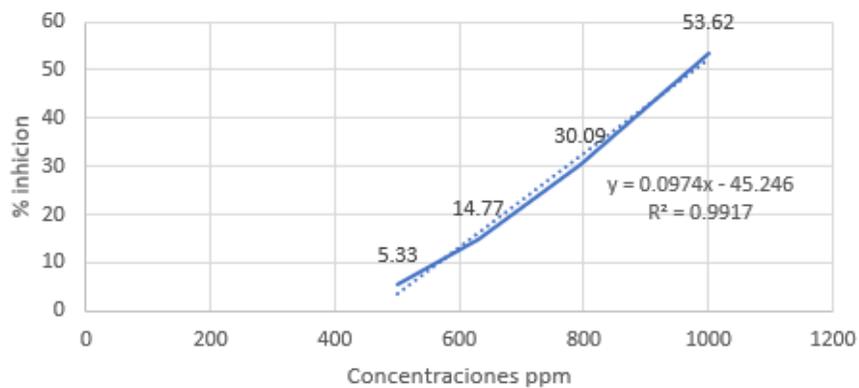
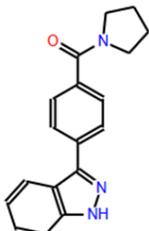


Figura 7. Gráfico de concentración (ppm) vs % de inhibición de J186 sobre la maleza *A. hypocondriacus*.

Por último, se implementó este mismo experimento empleando semillas de jitomate (*Solanum lycopersicum*). A diferencia de las semillas de las malezas anteriormente usadas, el jitomate es una especie de interés económico y requieren de un periodo de incubación de 48 horas a temperatura de 28°C para acelerar la presencia de un brote, y una incubación a temperatura ambiente por 96 horas para un periodo total del estudio de 5 días. Para determinar el posible impacto en estas semillas de interés comercial, se probó el compuesto J186 a dos niveles de concentración.

Tabla 4. Determinación del efecto fitotóxico del compuesto J186 sobre semillas de *S. lycopersicum* en el modelo de caja Petri

Semillas de jitomate	Concentraciones (ppm)	Crecimiento radicular (mm)	Desviación estándar	% Inhibición
J186 	Agua	47.70		-
	400	0	0	100%
	200	0.43	0.1528	99.09%

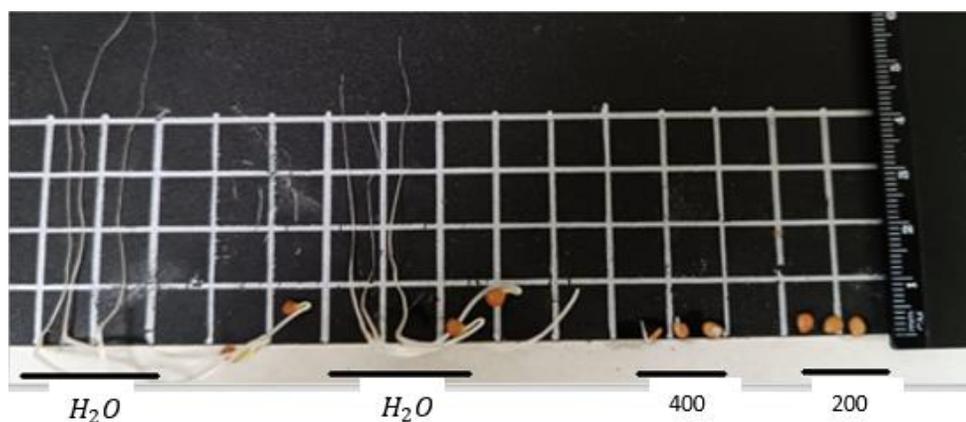
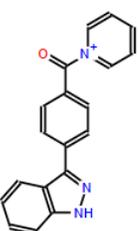


Figura 8. Medición de la radícula de semillas selectas de cada concentración de J186 en las semillas de *S. lycopersicum*.

5.3 Evaluación del efecto concentración-respuesta de J187 sobre la maleza *M. sativa*

De la misma forma que en el punto anterior, se realizó el estudio del efecto fitotóxico sobre la alfalfa del compuesto de tipo indazol J187. En un estudio previo, este compuesto demostró un efecto inhibitorio sobre el crecimiento radicular del amaranto (*A. hypochondriacus*) del 100 % a 1000 ppm, por tanto, las evaluaciones iniciaron desde esa concentración (tabla 2).

Tabla 5. Determinación de la CI₅₀ del compuesto J187 sobre semillas de *M. sativa* en el modelo de caja Petri

Semillas de alfalfa	Concentraciones (ppm)	Crecimiento radicular (mm)	Desviación estándar	% Inhibición
Viabilidad	Agua	23.90	2.097	-
J187 	1000	8.80	1.167	63.17
	794	13.80	0.200	42.25
	630	16.83	0.529	29.56
	501	18.87	0.305	21.05
	398	21.80	0.351	8.78

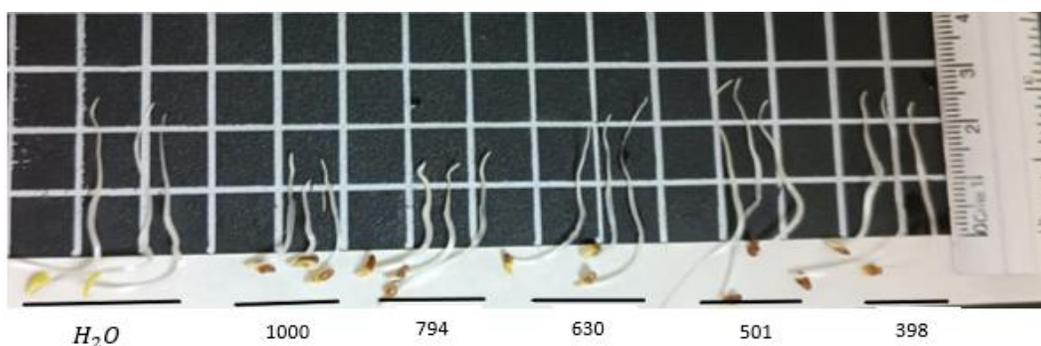


Figura 9. Medición de la radícula de semillas selectas de cada concentración de J187.

A partir del cálculo correspondiente se obtuvo una CI₅₀ de 861.00 ppm.

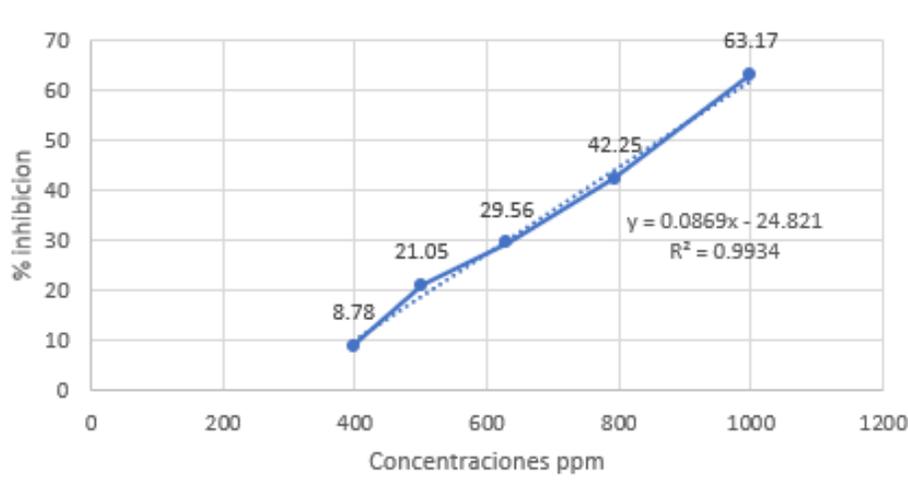
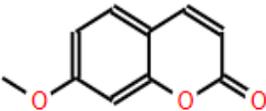


Figura 10. Gráfico de concentración (ppm) vs % de inhibición del J187 sobre la maleza *M. sativa*.

5.4 Evaluación del efecto fitotóxico de la cumarina Herniarina sobre *M. sativa*

En la evaluación de estos compuestos orgánicos, también se realizó el análisis del efecto fitotóxico de las cumarinas Herniarina y Escoparona, ambos productos naturales aislados de la especie vegetal *Tagetes lucida*. Para la Herniarina las concentraciones ensayadas fueron mucho menores, esto porque de acuerdo a la literatura, la especie vegetal y el compuesto ya había demostrado un efecto fitotóxico sobre amaranto. Así que las concentraciones se adaptaron a las semillas de alfalfa quedando como se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Determinación de la CI_{50} de la Herniarina sobre semillas de *M. sativa* en el modelo de caja Petri

Semillas de alfalfa	Concentraciones (ppm)	Crecimiento radicular (mm)	Desviación estándar	% Inhibición
Viabilidad	Agua	22.17	1.980	-
Herniarina 	200	2.72	0.254	88.11
	100	6.78	0.910	70.37
	75	12.03	0.665	47.45
	50	14.73	2.427	35.66
	25	18.63	1.335	18.65

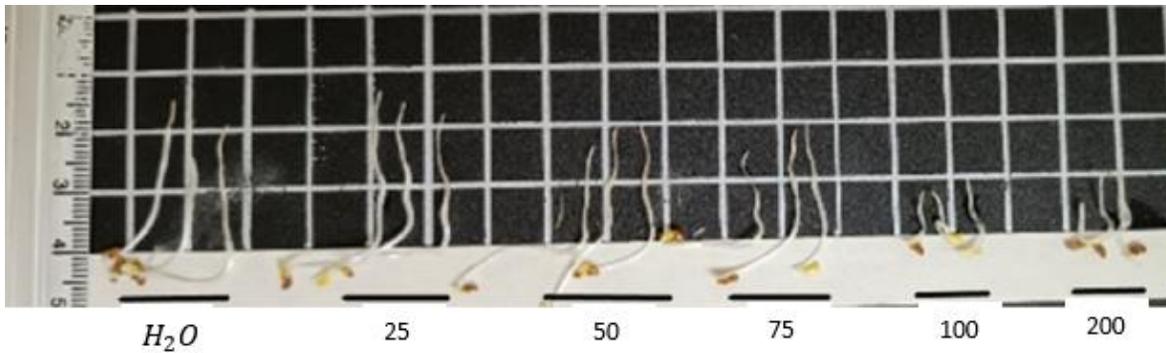


Figura 11. Medición de la radícula de semillas selectas de cada concentración evaluada de herniarina.

Con ayuda de la gráfica de dosis-respuesta se obtuvo una CI_{50} de 72.934 ppm

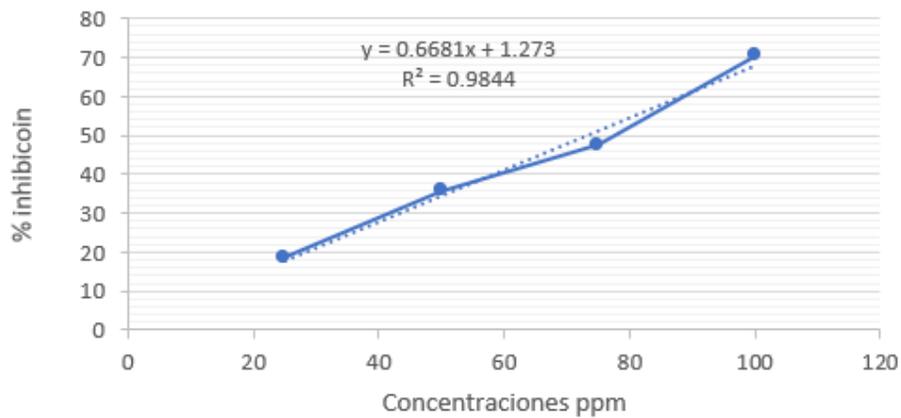
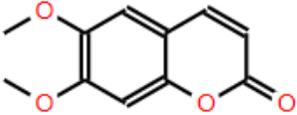


Figura 12. Gráfico de concentración (ppm) vs % de inhibición de la herniarina sobre la maleza *M. sativa*.

5.5 Evaluación del efecto fitotóxico de la cumarina Escoparona sobre *M. sativa*

En el caso de la Escoparona se evaluó a concentraciones más altas, tal como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Determinación de la CI_{50} de la Escoparona sobre semillas de *M. sativa* en el modelo de caja Petri

Semillas de alfalfa	Concentraciones (ppm)	Crecimiento radicular (mm)	Desviación estándar	% Inhibición
Viabilidad	Agua	22.35	1.345	-
Escoparona 	2500	3.63	1.692	84.13
	1000	5.30	0.754	76.85
	630	6.66	0.680	70.88
	360	11.96	1.001	47.74

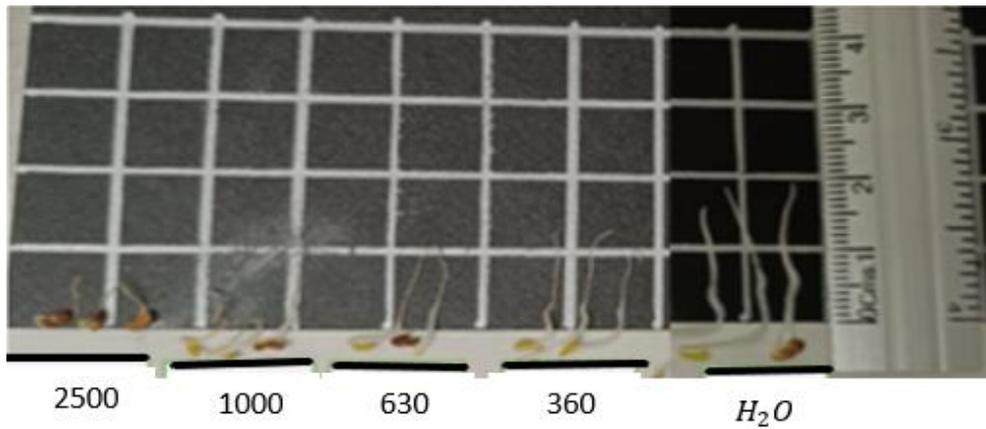


Figura 13. Medición de la radícula de semillas selectas de cada concentración evaluada de escoparona.

A partir del cálculo correspondiente se obtuvo una CI_{50} de 316.8 ppm.

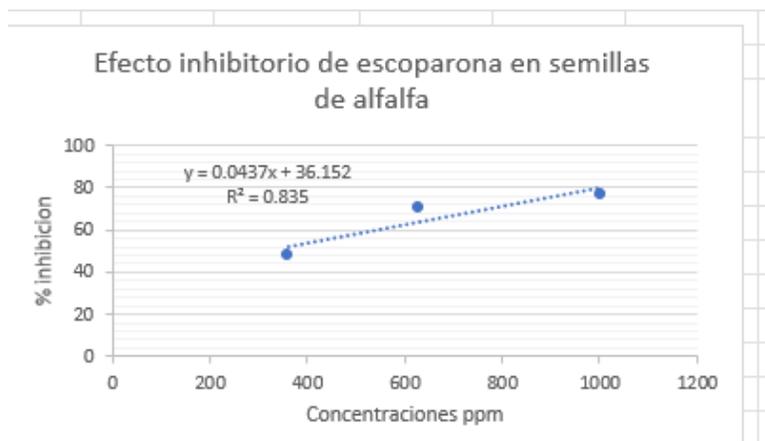


Figura 14. Gráfico de concentración (ppm) vs % de inhibición de la escoparona sobre la maleza *M. sativa*.

6. Discusión

Las malezas están en constante competición con plantas de interés económico y se les considera como las causantes de pérdidas en la producción agrícola. Más aún, la presencia de malezas en las actividades agroeconómicas se ha descrito desde muchos siglos atrás, como un serio problema (Jabran et al., 2015). Ante esto, las plantas en general han desarrollado mecanismos de interacción entre ellas, como la alelopatía, concepto acuñado por Molisch en 1937 que describió como la interacción química, positiva o negativa, de las plantas en su medio ambiente (Blum, 2011). Estas interacciones están mediadas por compuestos químicos denominados aleloquímicos. Estos compuestos son productos naturales biológicamente activos que muchas veces actúan como herbicidas naturales. A esta subclase de aleloquímicos también se les conoce como fitotoxinas y pueden ser utilizados para mitigar los problemas causados por malezas mediante el desarrollo de cultivos con mayor capacidad para suprimirlas, así como el uso de estas fitotoxinas naturales o sus derivados sintéticos como reguladores del crecimiento de las plantas, como se describe en el artículo de Macías et al., "Search for a Standard Phytotoxic Bioassay for Allelochemicals. Selection of Standard Target Species" (Macías et al., 2000).

En este trabajo, en primera instancia, se le dió seguimiento al desarrollado por Sampedro (2023), donde reporta el tamizaje de una serie de 16 indazoles empleando el modelo de inhibición del crecimiento radicular de semillas de amaranto (*A. hypochondriacus*) en caja Petri a una concentración de 1000 ppm. En ese reporte, se identificaron a ocho compuestos con un efecto inhibitorio del crecimiento radicular de entre el 90 y el 100 % sobre el amaranto, entre ellos están los indazoles con clave J186 y J187. Por otra parte, se evaluaron también dos cumarinas (Herniarina y Escoparona) aisladas de un extracto etanólico bioactivo de la especie *Tagetes lucida*, comúnmente conocido como pericón, donde encontraron que la herniarina presentó los mejores efectos de inhibición del crecimiento radicular sobre amaranto, no obstante, falta calcular su CI_{50} , así como su efecto sobre una semilla de interés económico como el jitomate (*Solanum lycopersicum*).

Los resultados generados en esta investigación indican que el núcleo indazol puede ser una estructura muy interesante para desarrollar herbicidas sintéticos, tal como lo

establecen Chattha y colaboradores (2013). Por tal motivo, aquí se reporta lo hallado para la evaluación fitotóxica de dos compuestos con este núcleo con un sustituyente diarilcetona en la posición 3 del núcleo indazol, uno de esos anillos es una pirrolidina (J186) y en el otro se trata de una piperidina (J187).

En primer lugar, la evaluación del efecto de un herbicida comercial como el Rival® sobre una de las malezas de estudio (*M. sativa*, alfalfa), permitió obtener un valor de referencia para comparar con los resultados obtenidos en los ensayos subsecuentes. En este caso, la CI_{50} calculada para el herbicida comercial fue de 550.44 ppm. Lo anterior nos permitió continuar con la evaluación de los compuestos J186 y J187.

En lo que respecta al primero de estos (J186), la evaluación sobre las semillas de alfalfa y su análisis estadístico demostró una CI_{50} de 1291.1 ppm, un valor poco más del doble que el presentado por el Rival, lo que nos indica que está compuesto tiene menos potencia con respecto al empleado en el mercado.

En cuanto a la evaluación del J187 sobre la misma maleza, se logró establecer una CI_{50} de 861 ppm. Este valor es menor al de J186 pero no mejoró lo mostrado por el Rival. Desde el punto de vista estructural, la diferencia entre J186 y J187 es el tamaño del anillo nitrogenado, como ya se comentó anteriormente. Concluyendo que estos cambios favorecieron poco en la actividad fitotóxica.

En el caso de J186, aún no se había establecido el efecto sobre la maleza *A. hypochondriacus*. La evaluación de dicho compuesto nos permitió establecer una CI_{50} de 977.88 ppm, que comparado con el obtenido para el Rival sobre la misma maleza por Sampedro (2023), donde su CI_{50} fue de 125.4 ppm, podemos observar que no son equiparables en potencia.

Finalmente, es necesario evaluar a estos compuestos sobre una especie de interés económico para generar información sobre su posible selectividad sobre malezas.

El compuesto J186 fue evaluado sobre el jitomate (*S. lycopersicum*), donde por razones de cantidad del compuesto disponible, solo se ensayaron dos concentraciones (200 y 400 ppm). Los resultados mostraron una inhibición del 100% de la germinación y crecimiento radicular. Este dato es muy revelador sobre el potencial fitotóxico sobre especies comestibles, en este caso sobre el jitomate, y la inespecificidad entre malezas y cultivos de interés económico.

La modificación estructural de compuestos líderes o *scaffolds* es una práctica fundamental en el desarrollo de compuestos bioactivos en la búsqueda de mejorar sus propiedades biológicas y aplicaciones. El indazol es un compuesto heterocíclico con diversas aplicaciones biológicas, incluyendo agrícolas, que puede ser objeto de modificaciones estructurales para aumentar su eficacia como herbicida tal como se demuestra en el artículo “New 2-phenyl-4,5,6,7-tetrahydro-2*H*-indazole derivatives as paddy field herbicides” de Taek y colaboradores (2004). El núcleo 1*H*-indazol tiene efecto herbicida y se comporta como un inhibidor del crecimiento (Chatta et al., 2013). En la investigación de Taek y Cols, se introdujeron varios sustituyentes en la posición 5 del grupo fenilo del *N*-feniltetrahidro-2*H*-indazol, encontrando compuestos sobresalientes como 3-Cloro-2-[4-cloro-2-fluoro-5-((3-fenil-5-metilsoxazolin-5-il)-metoxi)fenil]4,5,6,7-tetrahidro-2*H*-indazol, (**3a**) y 3-Cloro-2-[4-cloro-2-fluoro-5-((3-ciano-5-metilsoxazolin-5-il)-metoxi)fenil]-4,5,6,7-tetrahidro-2*H*-indazol (**3h**), que muestran excelentes características como herbicidas. En cultivos de arrozales, malezas como *Echinochloa oryzicola* (carrizo o cola de caballo), *Monochoria vaginalis* (Monocoria) y *Cyperus serotinus* Rottb (pimientillo) (control >98%) fueron sensibles a esta serie de compuestos a una concentración recomendada de 240 g AI ha⁻¹.

Los compuestos **3a** y **3h** mostraron una potente actividad no sólo contra *E. oryzicola* y *M. vaginalis*, sino también contra malezas anuales como *Lindernia pyxidaria* L (falsa pimpinela), *Rotala indica* (Willd) Kan (taza de dientes India), *Aneilema keisak* Hassk (Flor de rocío de pantano), *Cyperus difformis* L (Junco paraguas) y *Ludwigia prostrata* Roxb. (sauce prímula). El compuesto **3h**, mostró una actividad ligeramente superior a la del compuesto **3a**, controla completamente estas malezas a 125 g AI ha⁻¹. Por otro lado, Chattha y colaboradores (2013) sintetizaron algunos indazoles sustituidos en la posición 3-arilo y evaluaron su efecto en el crecimiento de semillas como el trigo y sorgo con bioensayos en caja Petri en concentraciones de 1 a 100 ppm. Los resultados demostraron que las diferentes sustituciones sobre el indazol tuvieron diversos efectos sobre la germinación de las semillas y el crecimiento temprano de las plántulas. En las semillas de sorgo, a 100 ppm, los derivados **5c**, **5e** y **5i** presentaron una inhibición de un poco más del 50 % en las raíces, en estos compuestos los sustituyentes son grupos de tipo estiril, clorofenil y dioxometilfenil. Para el caso del trigo, a 100 ppm, los mismos

compuestos **5c**, **5f** y **5i** mostraron más del 60 % de inhibición en la germinación, y se encontró que las semillas de trigo eran más sensibles a la inhibición que las semillas de sorgo. Lo cual indica que la germinación de las semillas y el crecimiento temprano de las plántulas también dependen de la naturaleza de la sustitución en el grupo arilo.

Finalmente, la evaluación de los dos compuestos de origen natural, la Herniarina y la Escoparona, sobre la alfalfa arrojaron los siguientes resultados.

La Herniarina es la cumarina más activa y 7.44 veces más potente con respecto al Rival. Se calculó una CI_{50} de 73.93 ppm, en contraste con los 550.44 ppm del herbicida de referencia. Por su lado, la escoparona presentó una CI_{50} de 316.8 ppm, mucho menos potente que la Herniarina y sólo 1.7 veces más potente que el Rival. Esto nos permite proponer el estudio sobre otras malezas, así como la modificación de la estructura de la Herniarina, evitando incorporar un metoxilo en la posición 6 del núcleo cumarina porque disminuye el efecto fitotóxico de una manera importante, por lo menos para la alfalfa.

Las cumarinas son una clase de benzopironas, tanto de origen natural como sintético que exhiben diversas actividades. Se consideran una de las formas más simples dentro del grupo de compuestos fenólicos, construidas a partir de un anillo α -pirona fusionado con uno bencénico.

Las plantas tienen mecanismos de defensa como los aleloquímicos (productos naturales biológicamente activos) que pueden ser, de hecho, herbicidas naturales. En términos de aplicación, uno de los objetivos más importantes de los estudios alelopáticos es la búsqueda de herbicidas alternativos.

En el estudio "*Plant growth inhibitory activities by secondary metabolites isolated from Latin American flora*" realizaron la identificación de algunos monoterpenos, diterpenos, lactonas sesquiterpénicas, limonoides, triterpenos, flavonoides y cumarinas, incluidos derivados de plantas -pertenecientes a las familias *Asteraceae*, *Celastraceae*, *Gomortegaceae*, *Lauraceae*, *Meliaceae*, *Monimiaceae*, *Poaceae* y *Winteraceae*. Con el objetivo de correlacionar las relaciones estructura-actividad de los metabolitos secundarios de las plantas sobre el comportamiento inhibitorio de estos compuestos sobre la germinación de semillas, la respiración, la fotosíntesis y la síntesis de ATP en mitocondrias, siendo estos los principales parámetros macroscópicos de desarrollo y crecimiento de plantas herbáceas.

En los últimos años, los productos naturales han servido como importantes materiales de partida para el descubrimiento de nuevos pesticidas. Los compuestos de benzopirano como las cumarinas y los flavonoides se encuentran ampliamente en las plantas y exhiben un amplio espectro de actividades biológicas.

El benzopirano tiene una estructura bicíclica única y está compuesto por un anillo de benceno y un anillo de seis miembros que contiene un átomo de oxígeno. Los dos isómeros principales del benzopirano son el benzo- α -pirano y el benzo- γ -pirano, mientras que el benzodihidropirano, el croman-2-ona, el croman-4-ona y el 4*H*-cromen-4-ona contiene variaciones estructurales.

Las cumarinas son un grupo grande de compuesto fenólicos que contienen un grupo alfa benzopirona. Un número muy importante de metabolitos de este tipo han sido aislados de plantas, bacterias y hongos, además de tener un amplio espectro de actividades biológicas, entre las que se destaca la actividad fitotóxica (Razavi, 2011). Entre las cumarinas más conocidas con un efecto fitotóxico destacan la Umbeliferona y la Dafnoretina. A concentraciones de 1mM estos dos compuestos mostraron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento radicular de la Avena (*Avena sativa*). También, ambas cumarinas han demostrado un efecto importante sobre la alfalfa (*M. sativa*) una de las malezas objeto de estudio. Por su parte, la herniarina ha sido aislada, entre otras especies, de la *Matricaria chamomilla*, donde fue evaluada para determinar su efecto sobre la producción de biomasa de la avena salvaje (*Avena fatua*) y el zacate italiano (*Lolium multiflorum*), con resultados interesantes sobre un 56 y 56.1% en la reducción de dicha biomasa. Ambas malezas afectan cultivos de importancia económica (Balah, 2020).

Por su parte, la Escoparona también es una cumarina que se ha aislado de distintas especies vegetales, tal es el caso de *Aralia armata*, una especie medicinal de China. En este estudio se reportó la evaluación biológica sobre la aceitilla (*Bidens pilosa*) con una CI_{50} de 139 mg/L, resultando con un mejor efecto que el control Pendimetalina (CI_{50} = 365 mg/L) (Miao et al., 2016).

El estudio “*Recent Advances and Outlook of Benzopyran Derivatives in the Discovery of Agricultural Chemicals*” realizado por Xing L, y colaboradores demuestran la inhibición de

la cumarina simple en la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de *Lolium multiflorum* Lam, *Polygonum aviculare*, *Veronica persica* y *Poa pratensis* L que fue >80% cuando la concentración fue de 40 mg/L, y fue un excelente compuesto líder para el descubrimiento de nuevos herbicidas.

Dos compuestos híbridos derivados de cumarina fueron diseñados y sintetizados introduciendo trifluorometilpiridina en el herbicida oxifluorfenó. Uno de ellos (**7b**) exhibió una buena actividad de herbicida contra *Digitaria sanguinalis*, *Echinochloa crus-galli*, *Setaria viridis*, *Abutilon theophrasti*, *Eclipta prostrata*, y *Amaranthus retroflexus*, siendo más eficaz que el herbicida comercial oxifluorfenó.

Además, se encontró que el efecto herbicida del compuesto **7a** era comparable al del oxifluorfenó a 150 g/ha en ensayos de campo, desafortunadamente su período de persistencia en el suelo fue corto, lo que llevó a un debilitamiento de su efecto herbicida con el aumento de la duración del tratamiento.

Por otro lado, los derivados de cumarina **8** y **9** diseñados y sintetizados mediante la introducción de la fracción amida mostraron una excelente actividad herbicida

Por ejemplo, el compuesto **8** inhibió significativamente el crecimiento de los tallos de *D. sanguinalis* y *A. retroflexus* a una concentración de 20 mg/L y exhibió una actividad herbicida comparable a la del acetoclor, mientras que el compuesto **10** mostró una mejor actividad herbicida (>70%) a 20 mg/L y tuvo un mejor desempeño que el acetoclor.

Llegando a la conclusión de que las modificaciones en los derivados del benzopirano se han incorporado principalmente en las posiciones 6 y 7 de la cumarina.

Se encontró también que la introducción de grupos donadores de electrones que contienen oxígeno (como el grupo metoxilo) en la posición 4 parece ser necesaria para la actividad herbicida de los compuestos debido a que la introducción de heterociclos y cadenas flexibles que contienen heteroátomos en la posición 6, y de grupos que contienen oxígeno (como los grupos éster, hidroxilo y metoxilo) en la posición 7, es beneficiosa para aumentar la solubilidad lipídica y la actividad herbicida de los compuestos.

Estos hallazgos demuestran el potencial que tienen las cumarinas como agentes herbicidas y que, en el caso de la Escoparona, será necesario continuar con su investigación sobre otras malezas.

7. Conclusiones

El estudio revela que tanto los compuestos con el núcleo cumarina como los indazoles tienen un importante potencial como agentes fitotóxicos debido a su capacidad para inhibir la germinación y el crecimiento de malezas de manera efectiva, igual o mejor que el herbicida comercial Rival®.

Se estableció que los derivados J186 y J187 poseen un efecto pobre o menor al Rival, lo que nos conduce a buscar nuevas modificaciones estructurales, sobre todo en la posición 3 del núcleo indazol.

Se estableció que la Herniarina es la cumarina más potente como fitotoxina con una CI_{50} de 73.93 ppm, 7.44 veces más potente que el Rival, sobre la alfalfa.

Estos resultados subrayan el valor de los compuestos naturales y sintéticos en el desarrollo de nuevos métodos de control de malezas, al ofrecer alternativas a los herbicidas químicos convencionales. La variabilidad en la eficacia observada entre los diferentes compuestos también destaca la importancia de modificar desde el punto de vista estructural a estos compuestos para maximizar su potencial fitotóxico. Este estudio proporciona una base sólida para futuras investigaciones y desarrollos en el uso de aleloquímicos y compuestos sintéticos en el manejo de malezas y la mejora de cultivos.

8. Referencias

- 1 Balah, Mohamed. (2020). Weed control ability of Egyptian Natural Products against annual, perennial and parasitic weeds. *Acta Ecologica Sinica*. 40. 10.1016/j.chnaes.2020.10.005.
- 2 Bermudez J, Fake CS, Joiner GF, Joiner KA, King FD, Miner WD, Sanger GJ (1990) 5-Hydroxytryptamine (5-HT₃) receptor antagonists. 1. Indazole and indolizine-3-carboxylic acid derivatives. *J Med Chem* 33:1924–1929.
- 3 Bistochi GA, De Meo G, Pedini M, Ricci A, Brouilhet H, Bucherie S, Rabaud M, Acquignon P (1981) N1-substituted 1H-indazole-3-ethyl carboxylates and 1H-indazole-3-hydroxamic acids. *Farmaco Ed Sci* 36:315–333.
- 5 Cerecetto H, Grepe A, Gonzalez M, Aran VJ, de Ocariz CO (2005) Pharmacological properties of indazole derivatives: recent developments. *Mini Rev Med Chem* 5(10):869–878.
- 6 Cespedes C, Marin J, Dominguez M, et. al, (2006). Plant growth inhibitory activities by secondary metabolites isolated from Latin American flora. M.T.H. Khan and A. Ather (eds.)
- 7 Chattha, Munawar, Nagra, Ashraf, Khan, Samina Kosur. (2013). Synthesis of 3-Aryl-1H-Indazoles and Their Effects on Plant Growth. *Springer Science+Business Media*, 32:291–297 DOI 10.1007/s00344-012-9297-1.
- 8 Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). (2020). Expediente científico sobre el glifosato y los cultivos GM. Recuperado de https://www.conacyt.gob.mx/PDF/Dossier_formato_glifosato.pdf
- 9 Cutler, H. G.; Cole, R. J. Carboxyatractyloside: A Compound from *Xanthium strumarium* and *Atractylis Gummifera* with Plant Growth Inhibiting Properties. The Probable “Inhibitor. A”. *J. Nat. Prod.* 1983, 46, 609-613.

- 10 García F, Lopez ME, Aguilar S, Aguilar A. (2012). Etnobotánica Y Morfo-Anatomía Comparada De Tres Especies De Tagetes Que Se Utilizan En Nicolás Romero, Estado De México. Bot Sci.
- 11 Jabran Khawar, Gulshan Mahajan, Virender Sardana, Bhagirath, S. Chauhan (2015). Allelopathy for weed control in agricultural systems. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.03.004>
- 12 Keppler BK, Hartmann M (1994) New tumor-inhibiting metal complexes, chemistry and antitumor properties. Met Based Drugs 1:145–149.
- 13 King, L. J. Weeds of the World, Biology and Control; Leonard. Hill Books: London, 1966.
- 14 Li_ZH, Wang Q, Ruan X, Pan C De, Jiang DA. (2010). Phenolics and plant allelopathy. Molecules;15(12):8933-8952. doi:10.3390/molecules15128933
- 15 Macias F, Castellano D. & Molinillo J. (2000). Search for a Standard Phytotoxic Bioassay for Allelochemicals. Selection of Standard Target Species. Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz. República Saharaui s/n, Apartado 40, 11510-Puerto Real, Cadiz, Spain.
- 16 Miao, H., Sun, Y., Yuan, Y., Zhao, H., Wu, J., Zhang, W. and Zhou, L. (2016), Herbicidal and Cytotoxic Constituents from *Aralia armata* (Wall.) Seem. Chem. Biodiversity, 13: 437-444. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201500130>.
- 17 Mosti L, Menozzi G, Schenone P, Molinario L, Conte F, Montanario C, Marmoe E (1988) Acetic acids bearing the 1-phenyl-1H-indazole nucleus with analgesic and anti-inflammatory activity. Farmaco Ed Sci 43(10):763–774
- 18 Nagano H, Takemoto K, Fukushima M, Yoshida A, Matsumoto K (Sumitomo Chemical Co.) (1985) Chem Abstr 104:186497
- 19 Narwal, S. S., y Sampietro, D. A. (2009). Chapter 1. Allelopathy and Allelochemicals. En: Isolation and Characterization of Allelochemicals/Natural Products. Edited By Diego A Sampietro, Cesar A.N. Catalan, Marta A. Vattuone. Science Publisher, Jersey.

- 20 Razavi SM (2011) Plant coumarins as allelopathic agents. *Int J Biol Chem* 5:86–90.
- 21 Rodgers JD, Johnson BL, Wang H, Greenberg RA, Erickson-Viitanen S, Klabe RM, Cordova BC, Rayner MM, Lam GN, Chang CH. (1996) Potent cyclic urea HIV protease inhibitors with benzo-fused heterocycles as P2/P2, groups. *Bioorg Med Chem Lett* 6:2919–2924.
- 22 Saito K, Kumita I, Hagiwara K, Ishikawa H, Inaba H, Sato J (Nippon Soda Co.) (1986) JP 61/291573. *Chem Abstr* 106:156464.
- 23 Salehi B, Valussi M, Flaviana M, Nalyda J, Linkoln Alves A, Douglas H, et al. *Tagetes* spp. Essential oils and other extracts: Chemical characterization and biological activity. *Molecules*. 2018;23(11):2847.
- 24 Sampedro (2023). Tamizaje de 16 indazoles empleando el modelo de inhibición del crecimiento radicular de semillas de amaranto (*A. hypochondriacus*).
- 25 Sampietro, D. (2001). Alelopatía: Concepto, características, metodología de estudio e importancia. *Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes*. [Sampietro-1.doc \(live.com\)](#).
- 26 Singh P, Krishna A, Kumar V, Krishna S, Singh K, Gupta M, et al. (2016) Chemistry and biology of industrial crop *Tagetes* Species: A review. *J Essent Oil Res*.
- 27 Steffens, G. L. (1986). *Bioassay Handbook*; Plant Growth Regulation Society of America.
- 28 Taek Hwang, Hyoung Rae Kim, Dong Ju Jeon, Kyung Sik Hong, Jong Hwan Song, Chang Kook Chunga and Kwang Yun Cho (2004). New 2-phenyl-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazole derivatives as paddy field herbicides. *Korea Research Institute of Chemical Technology, Bioorganic Science Division, Yusung, Taejon 305-606, Korea*.
- 29 Webster, S. *New Collegiate Dictionary*; Merriam, C. Co.: Springfield, 1980.

- 30 Xing Liu, Yong Zhang, Yue Zou, Chongchong Yan, and Jixiang Chen (2024). Recent Advances and Outlook of Benzopyran Derivatives in the Discovery of Agricultural Chemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- 31 Zicola J. (2016). Phytotoxins as Herbicides: Prospective Uses.

9. Anexos

<i>Medicago sativa</i> (Alfalfa)	<i>Amaranthus hypochondriacus</i> (Amaranto)	<i>Solanum lycopersicum</i> (Jitomate)
