

00361

29

Lej



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**" ESTUDIO DE LA SINTESIS Y CARACTERIZACION  
DE COMPUESTOS DE COORDINACION DEL 2-METIL  
BENCIMIDAZOL CARBAMATO Y DE SU ACTIVIDAD  
EN PROCESOS FOTOSINTETICOS. EN  
GERMINACION Y EN RESPIRACION DE SEMILLAS"**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

MAESTRIA EN CIENCIAS ( BIOLOGIA )

**P R E S E N T A :**

QUIMICA IMELDA VELAZQUEZ MONTES.

DIRECTOR (A) DE TESIS:

DRA. NORAH BARBA BEHRENS.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

1996

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO:

Presidente PH. D. Francisco Alfonso Larque Saavedra.

Primer Vocal Dr. Blas Lotina-Hennsen.

Segundo Vocal Dra. Irma Ofelia Bernal Lugo.

Tercer Vocal Dra. Norah Barba Behrens.

Secretario Dr. Federico A. García Jiménez.

Suplente Dra. Alicia Enriqueta Brechu Franco.

Suplente Dra. Silvia Castillo Blum.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio 211 de la División de Estudios de Posgrado a cargo de la Dra. Norah Barba Behrens del Departamento de Química Inorgánica y en el laboratorio 115, a cargo del Dr Blas Lotina-Hennsen del Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, UNAM.

Sustentante:

Quím. Imelda Velázquez Montes.

Directora:

Dra. Norah Barba Behrens.

Agradezco a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM, que durante 1994 me otorgó el estatus de becario nacional, así como al apoyo para compra de material y reactivos del proyecto DGAPA-IN204493, sin los cuales la presente investigación no hubiera sido posible.

Dedico esta tesis a El Creador, que no deja de darme absolutamente  
todo lo que necesito.

**Y**

**A mis amados hijos:**

**JUAN CARLOS SIERRA VELÁZQUEZ.**

**Y**

**ERI JONATHAN SIERRA VELÁZQUEZ.**

Quienes me motivan a superarme en lo personal y en lo profesional,  
para quienes hago todo lo que considero pueda ser beneficio. Quienes  
han padecido las limitaciones que están implícitas cuando se emprende  
una empresa de esta magnitud, con todo el tiempo, esfuerzo y  
dedicación que ello implica. A quienes quiero sobre todas las cosas.

## A G R A D E C I M I E N T O S :

Con muy especial agradecimiento a la **Dra. Norah Barba Behrens**, por su invitación y constante motivación para la realización de esta tesis, así como por enseñarme el camino en el que me gustaría continuar estudiando toda la vida.

Al **Dr. Blas Lotina-Hennsen**, por su comprensión y guía para trabajar con fotosíntesis, así como por ayudarme implementando nuevas técnicas de trabajo experimental, sobre todo con los experimentos (*in vivo*), con plántulas de gramíneas y de germinación y respiración de semillas.

A la **Dra. María de Jesús Rosales Hoz**, del CINVESTAV, compañera y amiga quien llevó a cabo el estudio por Difracción de Rayos-X del compuesto de cobalto.

Al **Químico Javier Salcedo**, del Instituto de Química, por la realización de las determinaciones termogravimétricas realizadas.

Al **M. en C. Simón Hernández Ortega**, del Instituto de Química, quien llevó a cabo el estudio por Difracción de Rayos-X del MBC.

A la Bióloga **Patricia Fierro**, por su valiosa ayuda en el invernadero.

A mis compañeros **Horacio López Sandoval y Alberto Toxqui Terán**, por su ayuda y apoyo constante, sobre todo cuando me enseñaron a usar los diversos equipos del laboratorio.

A **Jaquelina Fernández**, quien se desmañaba, desvelaba y asistía sábados, domingos, días festivos y vacaciones, para enseñarme y elaborar junto conmigo su tesis de licenciatura.

A todos mis compañeros:

Graciela, Mónica, Horacio, Alberto, Martha, José Antonio, Alejandro, Maru, Rosa Ma., Nadeshda, Mariana, MELva, Josefina, Jaquelina, Tony, Angélica, Perla, Laohucine, Sylvia, Adelina, Lilian y Rogelio.

**A MIS QUERIDÍSIMOS PADRES:**

**ERNESTO VELÁZQUEZ HURTADO**

QUIEN CON SU EJEMPLO, AFECTO Y COMPRENSIÓN ME SIGUE GUIANDO EN TODOS  
LOS ASPECTOS DE LA VIDA.

**Y**

**CATALINA MONTES DE VELÁZQUEZ**

POR TODO SU APOYO.

**A MIS QUERIDOS HERMANOS:**

**FELIPE ERNESTO VELÁZQUEZ MONTES**

**MARÍA HORTENCIA VELÁZQUEZ MONTES**

**JOSÉ ALEJANDRO VELÁZQUEZ MONTES**

**MARÍA DE LOS ÁNGELES VELÁZQUEZ MONTES**

**A MIS ADORADOS SOBRINOS:**

MARENA Y PABLO VELÁZQUEZ MÉNDEZ, CESAR Y ARIANA VALDÉZ VELAZQUEZ Y

FRIDA DOMINGUEZ VELÁZQUEZ.

A todos mis familiares y amigos(los que están y los que se han ido).

Por su amor, respeto y motivación con los cuales se complementa mi  
felicidad.

## INDICE

|  | página |
|--|--------|
| RESUMEN  | 1      |
| <b>CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN</b>                                   |        |
| Introducción   | 2      |
| Fotosíntesis   | 4      |
| Germinación  | 12     |
| Respiración  | 13     |
| <b>CAPÍTULO II. ANTECEDENTES</b>                                 |        |
| Justificación y Antecedentes                                     | 15     |
| Objetivos  | 17     |
| Hipótesis  | 18     |
| <b>CAPÍTULO III PARTE EXPERIMENTAL</b>                           |        |
| Material, reactivos y equipo                                     | 19     |
| Método general de síntesis                                       | 24     |
| Métodos para caracterización analítica y espectroscópica         | 25     |
| Metodología para caracterización biológica                       | 25     |
| <b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>                       |        |
| Resultados de las síntesis                                       | 34     |
| Caracterización Espectroscópica y analítica                      | 35     |
| Resultados por difracción de rayos-X                             | 45     |
| Resultados en la fotosíntesis <i>in vitro</i>                    | 50     |
| Resultados en tratamientos de Post-emergencia ( <i>in vivo</i> ) | 56     |
| Resultados en respiración de semillas                            | 63     |
| Resultados en germinación de semillas                            | 76     |
| <b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES</b>                                  | 84     |
| <b>BIBLIOGRAFÍA</b>  | 87     |
| <b>APÉNDICE</b>  | 95     |

## RESUMEN.

EL 2-METIL-BENZIMIDAZOLCARBAMATO ES CONOCIDO COMERCIALMENTE COMO CARBENDAZIN Ó MBC, SE UTILIZÓ COMO LIGANTE Y SE HIZO REACCIONAR CON LAS SALES DE  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$  Y  $\text{Co}^{+2}$ , ASÍ SE SINTETIZARON LOS COMPUESTOS DE COORDINACIÓN  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2, \text{H}_2\text{O}]$ ,  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{CL}_2, 4\text{H}_2\text{O}]$ ,  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2, 2\text{H}_2\text{O}]$ ,  $[\text{Ni}(\text{MBC})\text{CL}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ,  $[\text{Ni}(\text{MBC})_2(\text{NO}_3)_2, 2\text{H}_2\text{O}]$  Y  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{CL}_2, 2\text{H}_2\text{O}]$ . POSTERIORMENTE SE CARACTERIZARON ANALÍTICA Y ESPECTROSCÓPICAMENTE, TANTO LOS COMPUESTOS OBTENIDOS COMO EL COMPUESTO ORIGINAL (MBC). LOS RESULTADOS OBTENIDOS INDICAN QUE SE LOGRARON DETERMINAR LAS ESTRUCTURAS DE TIPO OCTAÉDRICAS PARA LOS COMPUESTOS DE NÍQUEL, PENTACOORDINADA PARA EL COMPUESTO DE COBRE Y TETRAÉDRICAS PARA LOS DE COBALTO. EL COMPUESTO  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{CL}_2, 2\text{H}_2\text{O}]$  Y EL MBC SE OBTUVIERON EN FORMA CRISTALINA Y SE DEFINEN CON GRAN PRECISIÓN LAS ESTRUCTURAS, ÁNGULOS Y DISTANCIAS INTERATÓMICAS POR MEDIO DEL ESTUDIO POR DIFRACCIÓN DE RAYOS-X.

CON OBJETO DE HACER UN ESTUDIO DE LAS RELACIONES DE ESTRUCTURA-ACTIVIDAD DE LOS COMPUESTOS MENCIONADOS, COMO POSIBLES HERBICIDAS; SE EVALUÓ SU EFECTO SOBRE ALGUNAS ACTIVIDADES DE LA FOTOSÍNTESIS, (USANDO CLOROPLASTOS AISLADOS DE HOJAS DE ESPINACA), TALES COMO TRANSPORTE DE ELECTRONES DESACOPLAO, BASAL Y FOSFORILADO; SÍNTESIS DE ATP Ó FOTOFOSFORILACIÓN, CAPTACIÓN DE PROTONES Y ACTIVIDAD DE  $\text{Mg}^{+2}$ -ATPASA; ENCONTRANDO QUE EL LIGANTE MBC SE COMPORTÓ COMO DESACOPLANTE NO CLÁSICO DE MANERA SIMILAR A LA QUE PRESENTA EL COMPUESTO DE COORDINACIÓN  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2, 2\text{H}_2\text{O}]$ . EL COMPUESTO DE COORDINACIÓN  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2, \text{H}_2\text{O}]$  PRESENTA UNA ACTIVIDAD DESACOPLANTE MAS INTENSA. EL COMPUESTO COORDINADO DE MBC CON COBALTO  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{CL}_2, 2\text{H}_2\text{O}]$  ADEMÁS DE COMPORTARSE COMO DESACOPLANTE NO CLÁSICO, PRESENTÓ EFECTO INHIBITORIO DÉBIL DE LA REACCIÓN DE HILL.

SE HICIERON ENSAYOS CON EL MBC Y SUS COMPUESTOS DE COORDINACIÓN SINTETIZADOS, SOBRE EL EFECTO EN LA GERMINACIÓN Y EN LA RESPIRACIÓN DE SEMILLAS DE MALEZAS DE HOJA ANCHA Y DE HOJA ANGOSTA, ASÍ COMO SOBRE GRAMÍNEAS DE USO AGRÍCOLA DE HOJA ANCHA Y ANGOSTA. LOS RESULTADOS ENCONTRADOS INDICAN QUE SE COMPORTAN COMO DESACOPLANTES DE LA RESPIRACIÓN SOBRE SEMILLAS DE *TRITICUM VULGARE* ASÍ COMO *PHYSALIS IXOCARPA*; EN TANTO QUE SON INHIBIDORES DESACOPLANTES EN SEMILLAS DE MALEZAS (*SMYRNUM MALIBENNE* Y *CASSIA OBTUSIFOLIA*) Y EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS TODOS LOS COMPUESTOS SE COMPORTAN COMO INHIBIDORES, DEPENDIENDO DE LAS CONCENTRACIONES DE CADA COMPUESTO ASÍ COMO DEL TIEMPO DE EXPOSICIÓN SOBRE CADA TIPO DE SEMILLA.

EN LAS PRUEBAS *IN VIVO* REALIZADAS EN HOJAS DE PLÁNTULAS TANTO DE GRAMÍNEAS DE HOJA ANCHA Y HOJA ANGOSTA, ASÍ COMO SOBRE MALEZAS, SE REPORTAN LOS DIFERENTE EFECTOS ENCONTRADOS DE LA APLICACIÓN DE LOS DIFERENTES COMPUESTOS USADOS EN VARIAS CONCENTRACIONES; Y LOS RESULTADOS SE REPORTAN CON LAS FOTOGRAFÍAS TOMADAS PARA PLANTAS CONTROL Y LAS ASPERSADAS CON LOS COMPUESTOS.

FINALMENTE SE CORRELACIONARON LAS ACTIVIDADES DETERMINADAS CON LAS ESTRUCTURAS DE LOS COMPUESTOS CON EL OBJETO DE RELACIONARLAS CON LA POSIBLE ACTIVIDAD HERBICIDA DE LOS COMPUESTOS, ENCONTRANDO:

A) EXISTE UNA RELACIÓN ENTRE LAS ESTRUCTURAS DE LOS COMPUESTOS Y LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS MISMOS, EL COMPUESTO TETRAÉDRICO  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{CL}_2, 2\text{H}_2\text{O}]$  FUE EL QUE MOSTRÓ MAYOR ACTIVIDAD, ESPECIALMENTE SOBRE LAS MALEZAS, TANTO EN GERMINACIÓN COMO EN RESPIRACIÓN Y EN FOTOSÍNTESIS, CON LO QUE SE PUEDE DECIR QUE LA ESTRUCTURA TETRAÉDRICA PERMITE QUE EL COMPUESTO AFECTE CON MAYOR FACILIDAD A LOS SISTEMAS BIOLÓGICOS UTILIZADOS EN ESTA TESIS, EN COMPARACIÓN CON LAS ESTRUCTURAS OCTAÉDRICAS Y PENTACOORDINADA, AUNQUE LA DIFERENCIA NO ES SIGNIFICATIVA EN CIERTOS CASOS.

B) SE OBSERVA UNA SELECTIVIDAD PARA PROPONER SU USO CON POSIBILIDAD HERBICIDA PARA PLANTAS DE HOJA ANCHA, EN VIRTUD DE QUE EN LAS PLANTAS DE HOJA ANGOSTA NO SE AFECTAN, UTILIZÁNDOSE EN TRATAMIENTOS DE POST-EMERGENCIA, SE PROPONE EL ORDEN SIGUIENTE:

$[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{CL}_2, 2\text{H}_2\text{O}] > [\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2, \text{H}_2\text{O}] > [\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2, 2\text{H}_2\text{O}] > \text{MBC}$

C) OTRO TIPO DE USO QUE SE SUGIERE ES EN TRATAMIENTOS EN PRE-EMERGENCIA PARA USARSE EN TODO TIPO DE MALEZAS (HOJA ANCHA Y HOJA ANGOSTA), CON POSIBILIDAD HERBICIDA, EN EL SIGUIENTE ORDEN:

$[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{CL}_2, 2\text{H}_2\text{O}] > [\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2, 2\text{H}_2\text{O}] > [\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2, \text{H}_2\text{O}] > \text{MBC}$

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCION:

Según estudios de la \*FAO (Food Agriculture Organization) (Organización para la Agricultura y Alimentación) de la ONU, una décima parte de la población mundial permanece en situación extrema de desnutrición y hambre, mientras que en países desarrollados hay excedentes de alimentos (Ashton y Crafts, 1973; Trebst y Draber, 1978). De acuerdo a lo reportado se pueden identificar 43 países (asiáticos, africanos y de América del Sur principalmente) con necesidades prioritarias en alimentos.

El aumento en la población mundial genera necesidades alimentarias proporcionales que plantea problemas básicos de aumento en la productividad agrícola. Así, el hombre para satisfacer sus necesidades de alimentación, cultiva frijol, maíz, verduras, frutas, etc. Sin embargo, por la acción de diferentes factores ( insectos, nemátodos, roedores, malezas, etc.), se pierde anualmente una tercera parte de la producción mundial de alimentos, durante el cultivo, la recolección y el almacenamiento, pero en los países en vías de desarrollo como los de Africa, la India y América latina, las pérdidas son del 40%. En la agricultura mexicana la situación es similar al promedio mundial y se calcula entre un 25 y 30% (Walton, 1988).

Uno de los factores que más afectan a los cultivos son las malezas, mismas que compiten por el agua, luz y nutrientes. Para combatir a las malezas ha sido indispensable el uso de herbicidas, por ello se explica que constituyen el 43% del total de los pesticidas que se consumen a nivel mundial (Pimentel, 1991).

Etimológicamente la palabra herbicida se compone de los vocablos *herbi*: hierba, vegetal; y *cida*: matar, muerte. En sentido amplio un herbicida es todo compuesto químico que inhibe total o parcialmente el crecimiento de malezas; una maleza es una planta que crece donde no se desea o una planta fuera de lugar. También se considera maleza a la planta de ciclo corto que prospera en diversos medios ambientales y produce un gran número de semillas por planta, lo que le confiere gran capacidad de colonización y de invasión gracias a su efectiva estrategia de reproducción (Perez-Garcia y Cols., 1995).

Al inicio de 1940 los agricultores de muchos países desarrollaron costosas estrategias de control de malezas como el mecánico, a partir de entonces se inició la investigación y desarrollo de nuevos herbicidas con mayor efectividad para el control de malezas.

Se utilizan cuatro métodos básicos de control de malezas: (1) medidas preventivas, (2) rotación de cultivos, (3) control biológico y (4) control químico. Siendo este último el método más usado, hasta el momento, para combatir las malezas, lo que hace necesario el uso de herbicidas, los cuales deben ser activos contra la maleza y debe tener efectos mínimos en plantas útiles o en otras formas de vida, es decir, no debe de ser tóxica, se debe poder manejar adecuadamente y ser estable en muchas condiciones de suelo y clima (Walton, 1988).

En 1940 fué importante el uso de las auxinas como el 2,4-D [ácido 2,4-diclorofenóxi acético], lo que originó el estudio de hormonas vegetales así como las modificaciones fisiológicas que producen estas hormonas cuando actúan como herbicidas (Martmann y Cols., 1988). Los herbicidas se clasifican como selectivos o no selectivos. Por ejemplo el 2,4-D es un herbicida selectivo para plantas de hoja ancha. Rociado en un campo de trigo, puede matar las malezas de hoja ancha, tales como el diente de león o la mostaza silvestre, pero no mata pastos o trigos. Los herbicidas no selectivos, tales como compuestos aromáticos matan toda la vegetación sobre la que son aplicados (Martmann y Cols., 1988).

Los herbicidas también pueden clasificarse (Martmann y Cols., 1988) de acuerdo al tiempo de aplicación en relación al ciclo de crecimiento de las malezas o del cultivo, como sigue:

**Tratamientos de pre-plantación.** El herbicida se incorpora en el suelo antes de plantar la cosecha. Las plantas de cultivo deben ser tolerantes al herbicida. La acción del herbicida en las malezas puede afectar a la planta, interfiriendo con varios procesos como podría ser la supresión de la división celular, etc.

**Tratamientos de pre-emergencia.** Los herbicidas son aplicados en la superficie del suelo después de la plantación pero antes de que broten las plántulas de la maleza, del cultivo o de ambas. Como la germinación de semillas y el estado de plántula es una etapa débil en el ciclo de vida anual de la planta, los tratamientos de pre-plantación y pre-emergencia son frecuentemente los más usados ya que son muy específicos y se requiere muy poca cantidad de herbicida por área.

**Tratamiento de post-emergencia.** El tratamiento del cultivo con el herbicida se sigue después de la emergencia de las plántulas del cultivo, de las malezas o de ambas. A veces, la aplicación es post-emergente para las plantas de cultivo pero de pre-emergencia para las malezas (Walton, 1988).

El sitio o blanco de acción de muchos herbicidas radica en la inhibición de la fotosíntesis, o bien en biosíntesis de microtúbulos o en la biosíntesis de carotenos. Otros herbicidas causan la inhibición de algunas enzimas de vías metabólicas (Albores-Velazco y Cols., 1986). El 50% de los herbicidas comerciales inhiben la fotosíntesis y presentan una baja toxicidad en mamíferos; la mayoría actúa bloqueando la enzima óxido-reductora ( $Q_B$ ) (inhibidores de la reacción de Hill) (Rice, 1984; Draber y Fedtke, 1978), mientras que otros lo hacen como aceptores de electrones en el lado reductor del fotosistema I, o como desacoplantes de la fotofosforilación o inhibidores de la transducción de energía (inhibidores de la  $H^+$ -ATPasa) (Draber y Fedtke, 1978).

## **FOTOSÍNTESIS.**

La **fotosíntesis** es la conversión de la energía de la luz solar a energía química. Esta reacción fotoquímica se realiza en plantas y cianobacterias fotosintéticas; en las que a partir del bióxido de carbono atmosférico, agua y compuestos inorgánicos, se sintetizan los **carbohidratos** con la consecuente liberación de oxígeno. La fotosíntesis se puede separar en dos fases: la fase luminosa y la fase oscura; la primera es la captación de la energía luminosa por moléculas **fotorreceptoras** convirtiéndola a energía química en forma de **NADPH**, **ATP** y la liberación de **O<sub>2</sub>** por **fotoólisis** del agua y se lleva a cabo en las membranas **tilacoidales** del **cloroplasto**. En la segunda fase, la fase oscura, se utilizan el **NADPH** y el **ATP** para reducir el **CO<sub>2</sub>** y transformarlo principalmente en **carbohidratos** (**glucosa**, **celulosa** y **almidón**) por medio de una reacción catalizada por la enzima fijadora de éste, **ribulosa 1,5 bifosfato carboxilasa**, la que adiciona **CO<sub>2</sub>** a la **ribulosa 1,5-bifosfato**, para formar dos moléculas de **3-fosfoglicerato**; esto es en plantas tipo **C<sub>3</sub>** y en plantas tipo **C<sub>4</sub>** también se puede utilizar la enzima **PEPcarboxilasa** (**fosfoenol piruvato carboxilasa**), y se realiza en el estroma del **cloroplasto** (Hiller y Goodchild, 1981; Govindjee, L y Govindjee, R., 1974; Hauska, 1977; Hill y Bendall, 1960).

Los **cloroplastos** son el sitio fotosintético de las plantas superiores. Estos organelos son de forma **globular** o **elipsoidal**, su tamaño oscila de **1 a 10 micras** de longitud (figura 1.1); están rodeados de una **doble membrana**, la membrana interna es permeable, continúa y contiene el **estroma**; el cual posee **DNA**, **ribosomas**, **plastoglobulos**, **aminoácidos**, **nucleótidos**, **ácidos orgánicos**, **carbohidratos**, **iones** y **aproximadamente 200 tipos de proteínas**, (Hiller y Goodchild, 1981).

En el interior del **estroma** hay una serie de **vesículas** o **sacos membranosos** llamados **tilacoides**, los cuales se acumulan en pilas; este conjunto se denomina **grana** (figura 1.1). Las **grana** están interconectadas por membranas llamadas **interlamelas**. La membrana **tilacoidal** contiene **50% de proteínas** (**lipoproteínas**), **40% de fosfolípidos** (**glicolípidos** y **10% de clorofilas**) (Ellis, 1989).

El presente estudio se realizó en la fase luminosa de la fotosíntesis, por lo que se detalla a continuación.

## HOJA DE PLANTA TIPO C<sub>3</sub>

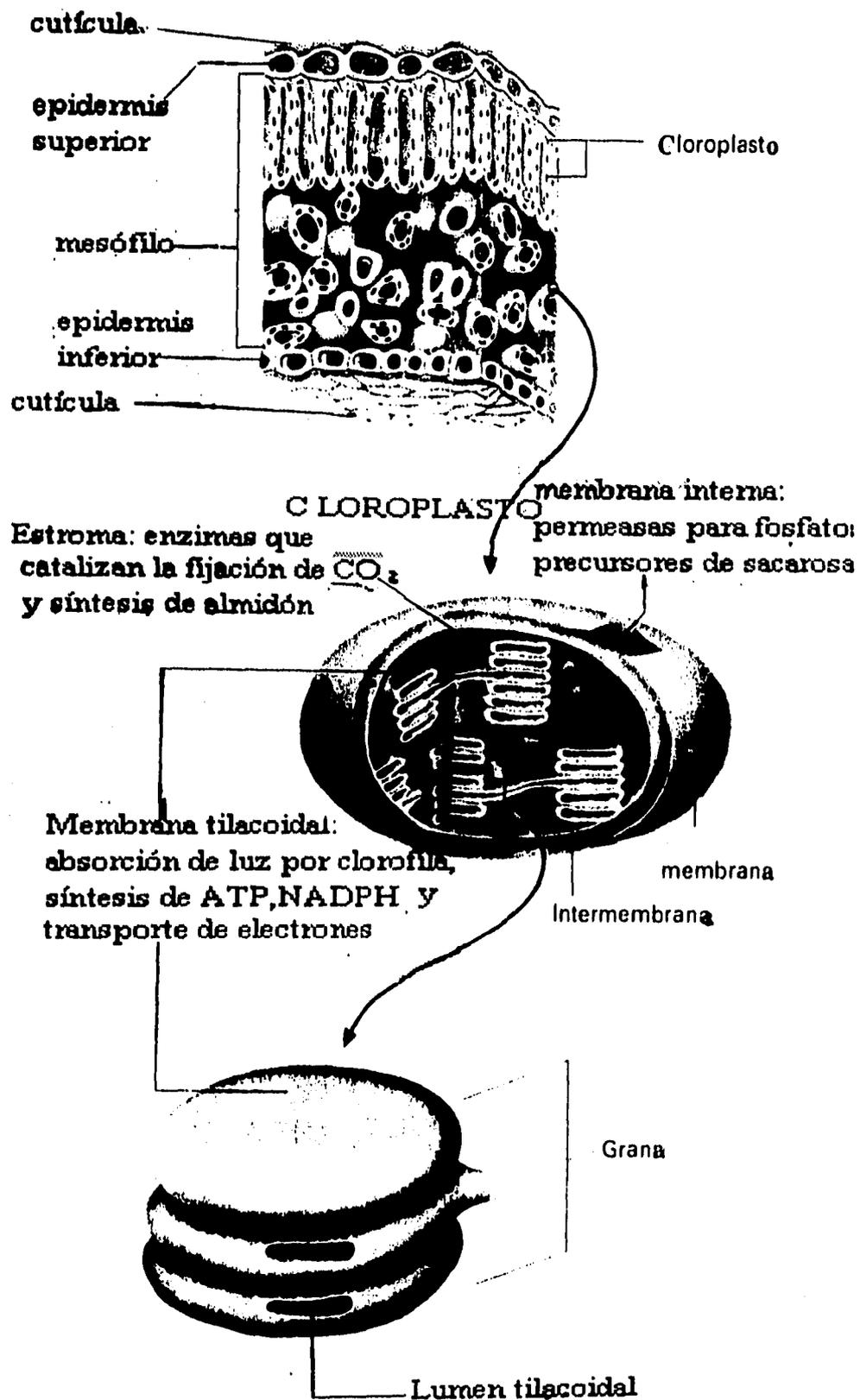


Figura 1.1. Representación de la estructura interna de una hoja (Molecular Cell Biology. Darnell, y Co 1990).



1) La transferencia de su energía a otra molécula de clorofila cuando su electrón excitado cae al estado basal, la energía se utiliza para elevar un electrón de una molécula vecina al estado excitado, los fotones absorbidos pasan de una molécula a otra hasta que alcanzan a los pigmentos de los centros de reacción.

2) La molécula de clorofila excitada puede regresar a su estado basal realizando trabajo en una reacción química que generalmente involucra la pérdida de un electrón de la molécula de pigmento. La clorofila de los centros de reacción disipa su energía de ésta forma (Anderson y Beardall, 1991). Existen dos centros de reacción en las plantas superiores, P680 y P700 (P=pigmento, 700 y 680 es la longitud de onda en nm a la que absorbe este pigmento), para el fotosistema II (FSII) y el fotosistema I (FSI), respectivamente (Armstrong, 1989; Hooper, 1984; Lehninger y Cols., 1993).

Los fotosistemas se encuentran constituidos por proteínas que son enzimas redox acarreadoras de electrones, pigmentos antena y un centro de reacción. La pérdida de un electrón en la clorofila deja una carga neta positiva, que atrae un electrón proveniente de alguna molécula donadora. En el fotosistema II los electrones provienen de la oxidación del agua, mientras que en el fotosistema I la donadora de electrones es la plastocianina reducida.

#### **TRANSPORTE DE ELECTRONES.**

Los electrones son inducidos a fluir de la molécula de agua al  $\text{NADP}^+$  (figura 1.3), este se reduce a NADPH en el cloroplasto, consecuentemente hay un desprendimiento de oxígeno por la oxidación del agua. Todas las células de plantas y algas fotosintéticas contienen un fotosistema I y un fotosistema II. En cada fotosistema se encuentra el complejo antena que transmite la energía luminosa (Trebst, 1972). Los conjuntos pigmentarios de ambos fotosistemas se encuentran en las membranas de tilacoides. Las proteínas y lípidos de ellas están asociadas a proteínas periféricas.

Las enzimas redox están ordenadas de acuerdo con sus potenciales estándar de oxido-reducción, desde el potencial estándar electropositivo del sistema agua-oxígeno ( $\epsilon^{\circ} = +0.82$  volts) al potencial negativo del par  $\text{NADPH-NADP}^+$  ( $\epsilon^{\circ} = -0.32$  volts). El transporte de un par de electrones del donador activado por la luz a un aceptor primario de electrones actúa en contra de un potencial electroquímico de 1.2 volts; este potencial es vencido por la energía de la radiación electromagnética (luz).

El fotosistema II media el transporte de electrones de agua a plastoquinona (PQ), en el que intervienen cinco transportadores redox (Anderson, 1986; Golbeck y Cols., 1977). Como primer paso el  $\text{H}_2\text{O}$  actúa como donador electrónico (Trebst, 1972), el cual reduce a un complejo con cuatro átomos de

manganeso al  $P_{680}^+$  (pigmento antena de la clorofila a y el  $\beta$ -caroteno componentes del  $P_{680}^+$ ), éste dona un electrón cuando está reducido y al ser excitado por la absorción de un cuanto de luz cuando el complejo (fotoenzima) que fotoliza el agua recibe cuatro cuantos de luz y después de cuatro fotoeventos, los electrones llegan por vía feofitina al aceptor primario  $Q_A$ , que es una quinona y después los electrones son donados al sistema  $Q_B$ , que es el punto de unión-herbicida (Anderson, 1986; Mitchell, 1977), conocido como aceptor secundario del FS II, que tiene como cofactor a una quinona tipo Pp unido a un complejo formado por cuatro átomos de  $Mn^{+3}$ , un  $Ca^{+2}$  y dos  $Cl^{-1}$  así como  $Y_2$ . La trampa o centro de reacción  $P_{680}^+$  que absorbe luz está localizado entre el donador primario Z (King, 1993) y el aceptor primario  $Q_A$  (Golbeck, 1977). Los electrones viajan por la membrana y llegan a la siguiente molécula acarreadora de electrones (figura 1.3) que es la plastoquinona PQ; de esta se transfieren al complejo Citocromo  $b_6/f$ , el cual oxida la plastoquinona, reduce a la plastocianina y cataliza el ciclo PQ.

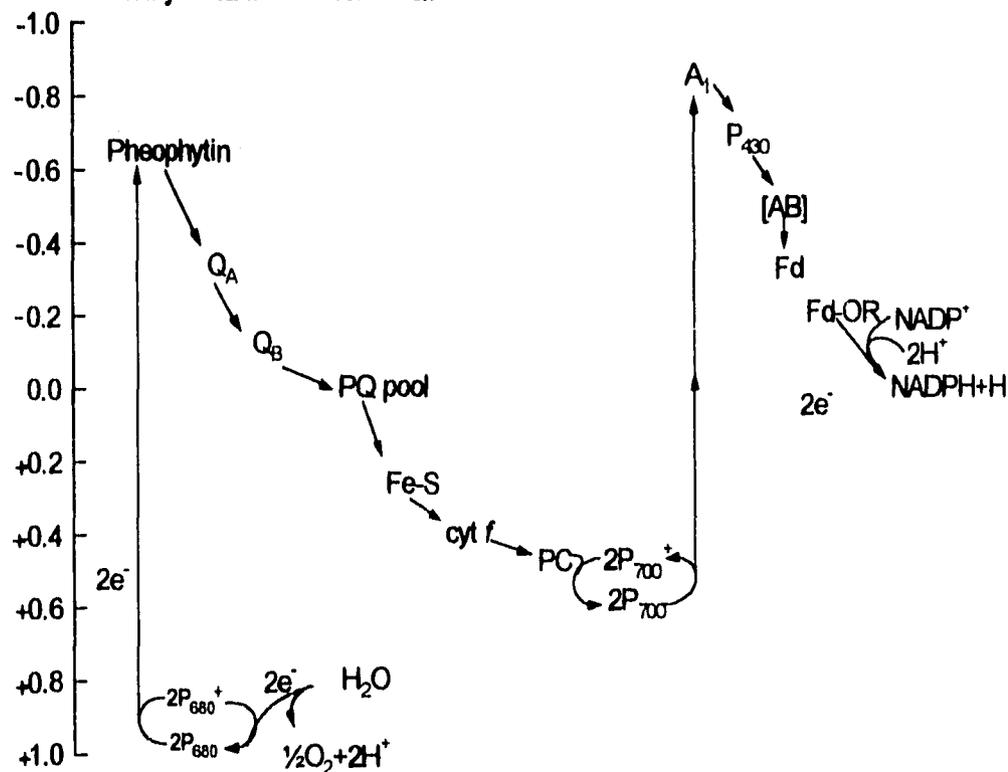


Figura 1.3. Esquema Z (Izawa, 1977) representa el transporte de electrones. Las flechas verticales más largas indican fotoexcitación y las cortas indican transporte de electrones.

**Complejo Citocromo  $b_6/f$ .** Es esencial para el transporte de electrones fotosintético, contiene al Citocromo f, Citocromo  $b_{563}$  y el centro Fe-S (Hurt y Haauska, 1981). La plastocianina es el siguiente aceptor-donador de electrones, contiene cobre en su sitio activo, que reduce a  $P_{700}^+$  en  $P_{700}$  en el fotosistema I (Armstrong, 1989).

Fotosistema I. El flujo de electrones va del aceptor P700 a NADP<sup>+</sup>, P700 es una sulfoferroproteína al igual que FA, FB y FD (ferredoxina) que reduce al NADP<sup>+</sup>, catalizada por ferredoxina-NADP-oxidoreductasa. Lo anterior es parte del transporte de electrones no cíclico, donde los electrones fluyen de H<sub>2</sub>O a NADPH (Danks y Cols., 1983). A<sub>1</sub> es un pigmento que se une a P700 que contiene clorofila a y β-caroteno (Anderson, 1986). Existe otro transporte de electrones que es cíclico, en el fotosistema I (figura 2). Esto se detecta debido a que en cloroplastos aislados se presenta la fosforilación de ADP a ATP en ausencia de cualquier donador o aceptor adicional de electrones y sin acumulación del aceptor final de electrones el NADP y sin participar fotosistema II (Armstrong, 1989; Lehninger y Cols., 1993).

La función del tilacoide consiste en regular mecanismos durante el crecimiento; también tiene un papel importante en la integración de complejos de antena; el tilacoide y el estroma tienen una interacción importante; la luz es el factor ambiental en el cloroplasto que causa una variación en la biosíntesis de NADPH y ATP que incluyen la asimilación de carbono.

La producción de NADPH+H<sup>+</sup> por el transporte de electrones de H<sub>2</sub>O a NADPH en el exterior de la membrana tilacoide se genera un gradiente de pH y un potencial eléctrico que activa la H<sup>+</sup>-ATPasa para sintetizar al ATP. La oxidación de agua y la PQH<sub>2</sub> reestablece el sistema ya que la H<sup>+</sup>-ATPasa utiliza el gradiente electroquímico para la síntesis de ATP (Armstrong, 1989; Lehninger y Cols., 1993). Cuando se trabaja con cloroplastos intactos se utiliza metilviológeno como aceptor artificial de electrones debido a que durante el proceso de su obtención, la ferredoxina y el NADP<sup>+</sup> se desprenden; el metilviológeno oxidado acepta un par de electrones y de protones. Está bien establecido que el transporte de electrones está acoplado a la fosforilación, por lo tanto se sugiere que el cambio de pH de la fase acuosa interna del tilacoide activa la fotofosforilación (Ort, 1976).

**H<sup>+</sup>-ATPasa (CF<sub>0</sub>-CF<sub>1</sub>).** Es la enzima principal en la transducción de energía en los tilacoides, utiliza el gradiente electroquímico generado durante el transporte de electrones para sintetizar ATP, cuando cumple con esta función se le llama ATPsintetasa, ésta enzima está compuesta de polipéptidos y se encuentra en la lamela estromal (Giaquinta y Dilley, 1975). Su sitio catalítico está en CF<sub>1</sub> de 400 KD en la superficie externa de los tilacoides en cloroplastos y éste está compuesto de subunidades polipeptídicas de diferente peso molecular α, β, δ, γ, ε, en la subunidad β está el sitio catalítico donde se hidroliza el ATP, y α es el sitio regulador; el resto de la enzima es un canal de protones CF<sub>0</sub> constituido de proteínas hidrofóbicas que están inmersas en la membrana, cuya función es transportar protones del interior de los tilacoides al sitio catalítico de la enzima; se ha propuesto que consta de 4 polipéptidos I, II, III, IV (Alt y Cols., 1983; Peña y Lotina, 1989; Pick y Racker, 1979; Beckers y Cols., 1992).

A un pH óptimo se induce la actividad de H<sup>+</sup>-ATPasa por iluminación del cloroplasto y es por reducción (protonación) y oxidación (desprotonación) de

residuos de la misma formando puentes disulfuros de la subunidad  $\gamma$  a -SH.  $CF_1$  es la parte de la enzima que está latente en la actividad de ATPasa (hidrólisis de ATP) en la oscuridad; parece haber diferentes mecanismos de activación de la  $H^+$ -ATPasa, se sugiere que el estroma contiene factores endógenos que intervienen en la activación-inactivación de  $H^+$ -ATPasa (Mills y Cols., 1980), y por energización de la membrana genera un flujo de protones de adentro hacia afuera del tilacoide;  $Mg^{2+}$  y  $Ca^{2+}$  también activan al  $CF_1$  de la  $H^+$ -ATPasa. La formación del potencial a través de la membrana es el primer paso durante la activación del complejo  $CF_0$ - $CF_1$ , y segundo es un cambio conformacional en  $CF_1$  induciendo la reducción del puente disulfuro e incrementando así la permeabilidad a los protones (Weiss y McCarty, 1977). La síntesis de ATP a partir de ADP y  $P_i$  utilizando la energía generada por el transporte de electrones depende de la luz y con la activación de la enzima se activa la hidrólisis de ATP en la oscuridad (Nicholls y Ferguson, 1982).

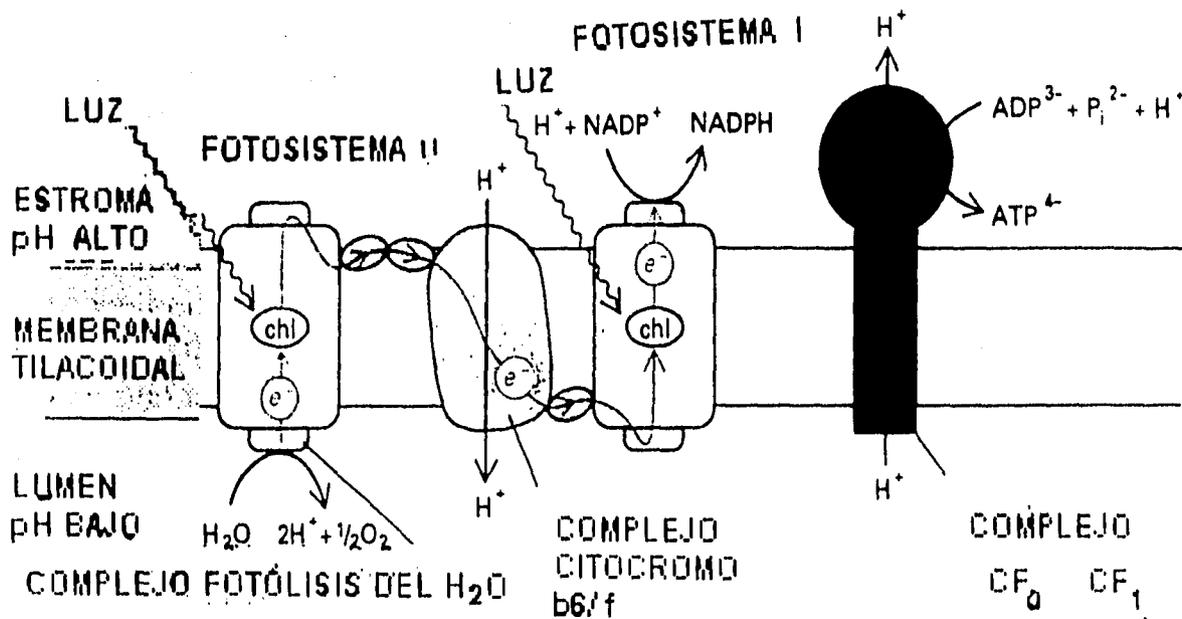


Figura 2. Representación de la cadena fotosintética ( Molecular Cell Biology. Darnell y Cols., 1990).

## COMPUESTOS QUE AFECTAN LAS REACCIONES LUMINOSAS DE LA FOTOSÍNTESIS.

**Efecto de los herbicidas en las reacciones luminosas de la fotosíntesis.**  
Este efecto se mide por el desprendimiento de oxígeno, observando la inhibición o la activación, evaluado en una suspensión de cloroplastos aislados y bajo

iluminación con aceptores de electrones artificiales o el natural readicionado ya que se pierde durante el aislamiento de los cloroplastos (Trebs, 1972). La acción de los herbicidas que afectan la fotosíntesis en los cloroplastos se clasifican de la siguiente manera (Moreland, 1980):

### 1) Inhibidores del transporte de electrones (Inhibidores de la reacción de Hill ó inhibidores del flujo de electrones en la enzima redox $Q_B$ ).

Son compuestos que inhiben el transporte de electrones en presencia o en ausencia de ADP y Pi o bien en presencia de  $NH_4Cl$  como desacoplante, así como la síntesis de ATP al afectar a uno o mas intermediarios de la cadena fotosintética, por ejemplo: tris [tris( hidroximetil)aminometano] actúa a nivel de la fotólisis del agua; DCMU [3-(3,4- diclorofenil)-1,1-dimetil urea] inhibe entre  $Q_A$  y  $Q_B$ ; KCN (cianuro de potasio) ejerce su efecto sobre la captación de protones (PC); DBMIB (dibromometilisopropil -p- benzoquinona ), actúa sobre PQ; DSPD (disalicilidén - propano - diamina) ejerce su efecto en el complejo ferredoxina, etc. ( Izawa, 1973; Izawa y Ort, 1974; Trebst y Avron, 1977; Astier y Cols., 1984). Los herbicidas inhiben principalmente la enzima redox  $Q_B$  que se encuentra en el fotosistema II, evitando así el transporte de electrones de  $H_2O \rightarrow NADP^+$ , inhiben el transporte de electrones en condiciones basal, fosforilante y desacoplado, por lo tanto no hay formación del gradiente de  $H^+$  ni síntesis de ATP (Izawa y Good, 1972; MaCarty, 1977; Moreland, 1980).

### 2) Desacoplantes.

Son compuestos que eliminan el acoplamiento que existe entre el transporte de electrones y la fosforilación; no afectan el transporte de electrones pero no se efectúa la síntesis de ATP, debido a que disipan el gradiente electroquímico de protones. De acuerdo a la hipótesis quimiosmótica, los desacoplantes son ácidos o bases débiles y lipofílicos que colapsan el potencial electroquímico de protones al transferirlos de un lado a otro de la membrana transductora de energía, estos son conocidos como protonóforos (Terada, 1990). Algunos ejemplos de desacoplantes son: DNP (dinitrofenol), el cloruro de amonio, el SF 6847 (3,5-di-ter -butil-4-hidroxibencilidén-malonitrilo), el FCCP (carbonil cianuro *p* -trifluorometoxifenilhidrazona), el CCCP (carbonil cianuro 3-clorofenilhidrazona), etc. (Crofts, 1966; Yoshikawa y Cols., 1980; Terada, 1981).

Los colorantes tri-S- $C_4$  y tri-S- $C_7$  y el complejo (o-fenantrolina) $_2$ - $Cu^{2+}$  (catiónicos e hidrofóbicos) son compuestos que no tienen un grupo ácido y que

inducen desacoplamiento. Son menos potentes que los protonóforos, actúan a concentraciones muy altas y requieren la presencia de  $P_i$  en el medio (Terada y Cols., 1985). Shinohara y Terada (1987) reportaron que estos compuestos modifican una proteína de KD presente en la ATPasa de  $H^+$  de la mitocondria en hígado de rata.

### **3) Inhibidor de la transferencia de energía.**

Estos compuestos actúan directamente sobre la enzima que se encarga de llevar a cabo la fotofosforilación de ADP al interferir con la actividad catalítica de  $CF_1$  o de  $CF_0$  ó de ambos. Esta inhibición no tiene efecto sobre el transporte de electrones basal y desacoplado, ni sobre la magnitud del gradiente de protones.

Algunos ejemplos son:

Dio-9, DCCD, N-etilmaleimida (NEM), florizina y trifenilestaño, entre otros (McCarthy y Racker, 1965; Gould, 1976; Izawa y Good, 1983; Vermeaglio y Cols., 1984).

### **4) Aceptores de electrones.**

Son los compuestos que compiten por los electrones con algunos intermediarios (enzimas redox) de la cadena del transporte de electrones para reducirse, aceptan electrones como el paraquat o metilviológeno (Moreland, 1980). Los aceptores de electrones pueden ser utilizados para estudiar reacciones parciales de la fotosíntesis, como el ferricianuro de potasio, el paraquat y la fenazina-metosulfato, etc. (Mahler y Cordes, 1966).

## **GERMINACIÓN DE SEMILLAS:**

El proceso de germinación se lleva a cabo cuando las semillas no se encuentran en el periodo de Latencia (etapa de descanso para la semilla, la cual se ve afectada por temperatura, humedad, oxígeno, iluminación, presencia de inhibidores, cubierta impermeable o mecánicamente resistente, embriones inmaduros, etc.).

La germinación (Bewley y Black, 1994) se inicia con la captación de agua por la semilla (Imbibición) y finaliza con el inicio de la elongación del eje embrionario, normalmente en la radícula. La germinación incluye numerosos eventos, como son hidratación de proteínas y membranas y cambios estructurales subcelulares, respiración, síntesis macromolecular y elongación celular; se manifiesta al cambiar un embrión en estado de reposo a embrión metabólicamente activo mediante un aumento de tamaño. Para que una semilla germine debe contar con un ambiente favorable que incluye abastecimiento adecuado de agua, temperatura adecuada, composición de gases (proporción  $O_2/CO_2$ ) en la atmósfera y luz para ciertas semillas.

El paso inicial de la germinación es la imbibición, o sea la cantidad total de agua que la semilla capta, esta cantidad de agua puede ser de 2 a 3 veces el peso seco de la semilla. Después de la germinación, el embrión da origen al crecimiento de la plántula, que involucra el establecimiento de la raíz y tallo, el evento consume gran cantidad de agua. Mientras las semillas empiezan a tomar agua, hay una liberación de coloides por gases adsorbidos que escapan rápidamente al medio circundante y que contiene azúcares, ácidos orgánicos, iones, aminoácidos y proteínas.

La fuente de las sustancias intracelulares es la capa exterior de los cotiledones, que se hincha en minutos con la penetración de agua.

### **RESPIRACIÓN DE SEMILLAS:**

La respiración es la función fisiológica por la que la célula oxida sustancias con la consiguiente liberación de energía, la cual es utilizada para realizar diversos trabajos metabólicos, según el tipo de organismo. Los factores que la modifican pueden ser: la luz, que induce un aumento en la intensidad respiratoria, la hidratación del protoplasma, puesto que las semillas secas casi no respiran, pero en cuanto se hidratan empiezan a oxidar material energético; el factor más importante es la temperatura (Rojas y Rovalo, 1984).

El consumo de oxígeno en la respiración de algunos embriones de semillas, difiere del oxígeno almacenado en el tejido. Se considera que la respiración involucra tres o cuatro fases (Derek y Black, 1994).

**FASE I.** Ocurre un agudo y rápido incremento en el consumo de oxígeno, que puede atribuirse a la activación y a la hidratación de las células y de las enzimas mitocondriales involucradas en el ciclo del ácido cítrico y la cadena transportadora de electrones. Durante esta fase, la respiración se incrementa linealmente con el grado de hidratación del tejido.

**FASE II.** Se caracteriza por una estabilización o retraso del consumo de oxígeno, ya que el nivel de  $O_2$  se incrementa muy lentamente o bien llega a un punto donde permanece estable. Se completa la hidratación de las partes de la semilla

y todas las enzimas preexistentes son activadas. Posiblemente hay un pequeño incremento en los niveles de enzimas que intervienen en la respiración o bien en el número de mitocondrias disponibles durante esta fase. El retraso de la respiración durante esta fase en algunas semillas, puede ser por la membrana que la cubre o bien porque las estructuras circundantes limitan el nivel de  $O_2$  en el embrión imbibido, o el almacenado en el tejido, primero temporalmente en condiciones anaeróbicas. Otra posible razón del retraso es que la activación de la vía de la glucólisis durante la germinación es más rápida que el desarrollo de la mitocondria. Esto puede llevar a la acumulación de piruvato debido a la diferencia en el ciclo del ácido cítrico o de la cadena de transporte de electrones, por lo tanto, algunos piruvatos pueden ser desviados temporalmente a la vía fermentativa que no requiere  $O_2$ . Entre la fase II y la fase III la radícula del embrión penetra en las estructuras circundantes.

**FASE III.** Se caracteriza por un incremento en el consumo de  $O_2$  que se puede atribuir a un incremento en la actividad respiratoria de mitocondrias y enzimas recientemente sintetizadas de las células proliferativas del crecimiento axial. También se incrementa el número de mitocondrias almacenadas en el tejido muchas veces en asociación con la movilización de reservas.

**FASE IV.** Solo ocurre en reservas de tejido y coincide con su envejecimiento seguido por la reducción de las reservas acumuladas. La duración de las fases I a IV varía en cada especie de acuerdo con las diferencias en la velocidad de imbibición, permeabilidad al  $O_2$  de la membrana y velocidades metabólicas. Además la aereación de las fases puede variar considerablemente con las condiciones del ambiente, principalmente con la temperatura (Derek y Black, 1994).

## CAPÍTULO II

### JUSTIFICACIÓN Y ANTECEDENTES:

Los criterios recientes para el uso de biocidas, exigen el uso de compuestos más eficientes, biodegradables, entre los que se encuentran los herbicidas de baja toxicidad y que no inducen resistencia en las malezas (Pimentel, 1991). En el diseño y búsqueda de nuevos herbicidas con estos criterios, son necesarios estudios básicos dirigidos a la caracterización de compuestos que afectan a la fotosíntesis, *in vitro* e *in vivo*; con el objeto de identificar las propiedades químicas y estructurales de los compuestos responsables de esta actividad. Debido a que el cloroplasto es característico de algas y plantas, cuyos componentes enzimáticos no se encuentran en otros organismos de la escala evolutiva, este organelo es utilizado como modelo biológico para diseño, síntesis y caracterización de compuestos que afectan a la fotosíntesis.

Se sabe que en las plantas, los iones metálicos de transición son esenciales, para el transporte de electrones, por ejemplo en reacciones de óxido-reducción (Huges, 1987), actividades enzimáticas, etc. El estudio de la interacción de iones metálicos con metabolitos, enzimas y compuestos bioactivos es importante ya que se sabe que ciertos metabolitos participan (Barba-Behrens y Cols., 1993) en la regulación de vías metabólicas y que algunos iones metálicos de transición son esenciales para la catálisis enzimática, como es el caso de las enzimas redox de los cloroplastos que intervienen en la reacción de Hill de la fotosíntesis (Huges, 1987), además los iones son capaces de formar compuestos de coordinación con los sustratos de enzimas y/o proteína que modifican, interfieren o amplifican su actividad. (Barba-Behrens, 1993).

A la fecha no se sabe si en la acción herbicida de los compuestos orgánicos sintéticos actúan solos o pueden interactuar o formar compuestos de coordinación con los iones metálicos que se encuentran en las células. Por ello resulta interesante el estudio de la interacción de sustancias herbicidas con estos iones metálicos y su influencia en la actividad herbicida y en la inhibición de fotosíntesis, con el objeto de entender su mecanismo de acción. En la literatura, se han reportado compuestos de coordinación con iones metálicos que poseen actividad biocida (Pressman, 1973; Janardhan y Cols., 1985). Sin embargo se requiere profundizar en el estudio de los mecanismos de acción de las sustancias con propiedades herbicidas.

En un protocolo de caracterización de herbicidas que afectan el metabolismo energético de la planta, se requiere estudiar el efecto de los compuestos en germinación y en la respiración de semillas, así como su efecto en las hojas de plantas agrícolas y en malezas (fotosíntesis *in vivo*) y en cloroplastos aislados, donde se estudia la fotosíntesis *in vitro*.

Para conocer el mecanismo de acción de los compuestos de coordinación se requiere la selección de un compuesto que pueda funcionar como ligante, en este caso el 2-Metil bencimidazol carbamato (Daudse, 1974), conocido como MBC y comercialmente como Carbendazim (figura 3.1), el cual resulta tener una actividad biológica importante, no sólo como fungicida probado sobre el crecimiento de *Aspergillus nidulans*, también se ha reportado como antimitótico ya que produce modificaciones estructurales por mutación, alterando el código genético de este hongo. Probado en *Ustilago maydis* y *Saccharomyces cerevisiae* por Schlag y Sisler (1973), quienes encontraron que MBC tiene efecto primario sobre la mitosis. También produce inhibición de la síntesis de DNA y RNA (Daudse, 1974). Dados estos antecedentes es interesante sintetizar sus compuestos de coordinación así como su caracterización espectroscópica y biológica, lo que podría dar información en cuanto a las posibles relaciones entre las estructuras de los compuestos sintetizados con la actividad biológica de los mismos.

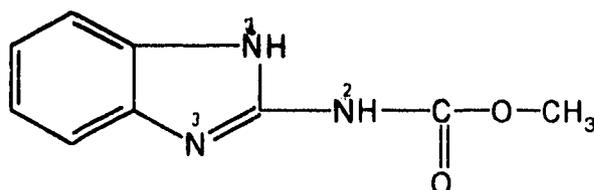


Figura 3.1. Estructura del 2-metil bencimidazol carbamato ó Carbendazim (MBC).

En el mercado existen varios derivados sustituidos de los bencimidazoles de uso tópico ó sistémico en el tratamiento de una gran variedad de enfermedades micóticas, virales, bacterianas, helmínticas, también hay derivados de los bencimidazoles usados como herbicidas que afectan a la fotosíntesis (Barba-Behrens y Cols., 1993 ; Kriton y Donald, 1980). Los herbicidas del tipo de bencimidazoles inhiben al fotosistema II uniéndose a una proteína de peso molecular de 32-34 KD en la membrana tilacoidal (Ken-ichiro y Cols., 1986). Los compuestos activos deben poseer ciertas características fisicoquímicas que les permitan llegar al sitio de acción, como son: balance hidrofóbico-hidrofílico, una estructura con reactividad libre o que pueda liberarse en el sitio de acción y que no presente impedimento estérico.

El 2-metil bencimidazol carbamato (figura 3.1) es un derivado bencimidazólico que tiene la capacidad de formar compuestos de coordinación con iones metálicos como el cobalto, cobre y níquel, a través de un nitrógeno del grupo del bencimidazol ó bien por el oxígeno del grupo carbamato. Por los antecedentes mencionados en este trabajo, se sintetizaron y se caracterizaron compuestos de coordinación del 2-metil bencimidazol carbamato, estudiándose sus efectos en las diferentes actividades fotosintéticas como el transporte de electrones (basal, fosforilante y desacoplado), fotofosforilación, captación de protones, síntesis de ATP y actividad de  $H^+$ -ATPasa. De los datos obtenidos se pretende conocer el mecanismo de acción de los compuestos como inhibidores de la reacción de Hill, inhibidores de la transducción de energía o bien como desacoplantes. Al mismo tiempo se pretende detectar los compuestos más activos. También ensayar los compuestos en la germinación y en la respiración de semillas, así como sobre plántulas *in vivo* para completar su caracterización con posibilidad herbicida.

## **OBJETIVOS.**

### **OBJETIVO GENERAL.**

El propósito del presente trabajo fué estudiar la síntesis y caracterización de los compuestos de coordinación con iones metálicos de transición ( $Co^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$  y  $Ni^{+2}$ ) del 2-metil bencimidazol carbamato (MBC o Carbendazim) para establecer los efectos biológicos en la fotosíntesis, respiración y germinación de semillas; y en los ensayos *in vivo* en hojas de malezas y plantas gramíneas representativas para tratar de encontrar una correlación entre estructura y actividad.

### **OBJETIVOS PARTICULARES.**

- 1.- Sintetizar compuestos de coordinación del ligante 2-metil bencimidazol carbamato con sales metálicas de  $Co^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$  y  $Ni^{+2}$  en diferentes proporciones estequiométricas.
- 2.- Caracterizar los compuestos mencionados, por medio de análisis elemental, pruebas de conductividad y métodos espectroscópicos como infrarrojo, espectroscopía electrónica por reflectancia difusa y cuando se obtengan cristales por medio de difracción de rayos-X.

3.- Determinar el efecto del ligante MBC y sus compuestos de coordinación, en las actividades fotosintéticas de a) transporte de electrones (basal, desacoplado, fosforilado), b) fotofosforilación, c) captación de protones, d)  $H^+$ -ATPasa. Para estudiar el mecanismo de acción de los compuestos mencionados ya sea como: desacoplantes, inhibidores de la reacción de Hill ó inhibidores de la transducción de energía.

4.- Determinar el efecto de diferentes concentraciones de los compuestos en experimentos de post-emergencia en hojas *in vivo* tanto de plántulas de uso agrícola como de malezas.

5.- Determinar el efecto con diferentes concentraciones de los compuestos en experimentos de pre-emergencia, sobre los procesos de germinación y respiración de semillas de malezas y semillas de gramíneas de uso agrícola.

6.- Correlacionar la actividad en los procesos fotosintéticos *in vitro* e *in vivo* que puedan presentar, con las diferentes estructuras de los compuestos de coordinación y el ligante (MBC).

#### HIPÓTESIS.

1) Para las síntesis, se propone que los sitios de coordinación más favorecidos para el carbendazim (MBC) serían ( flechas en la figura 3.2) los nitrógeno imidazólicos N(1), o N(3), debido a la tautomería que se presenta en el anillo imidazólico y el puente de hidrógeno (NH-O); así como el oxígeno del grupo carbamato.

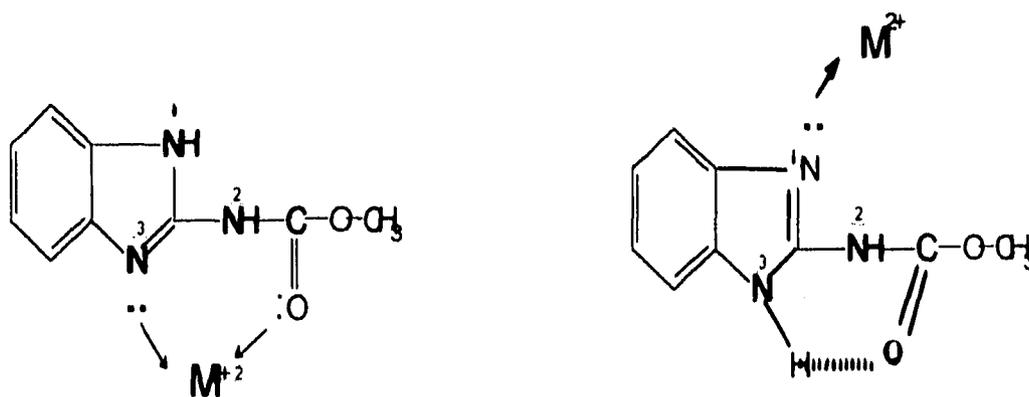


Figura 3.2 Estructuras del 2-metil bencimidazol carbamato (MBC) indicando los posibles sitios de enlace al ión metálico  $M^{2+}$ .

2) Este ligante así como los iones metálicos usados en la coordinación, son bioactivos cada uno en diferentes organismos. Se espera que los compuestos de coordinación sintetizados presenten actividad biológica mayor que la que presente el ligante, porque los iones metálicos potenciarán su actividad, la cual será diferente y propia de los compuestos de coordinación estudiados, como se propuso en antecedentes y justificación.

## **CAPÍTULO III**

### **PARTE EXPERIMENTAL.**

#### **A. MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.**

##### **Material:**

**Barras magnéticas.**

**Espátulas**

**Frascos ambar de 1 lt, 2 lt.**

**Gradillas.**

**Matraces aforado de 5, 10, 100 ml, 1 lt, 2 lt.**

**Microjeringa Hamilton Syringe cap. 25, 50, 100  $\mu$ l.**

**Micropipeta Pipetman Gilson, cap. 20, 200, 1000  $\mu$ l.**

**Pipeta de 3 ml.**

**Pipetas pasteur.**

**Recipientes para agua y hielo.**

**Tubos de centrifuga.**

**Tubos de ensaye Pyrex No. 9825 y No. 9820.**

**Vasos de precipitado de 10 ml, 100 ml, 2 lts.**

**Cajas de petri de 5cm y de 10 cm de diámetro**

**Semilleros y vasos de unicel**

**Papel filtro**

**Aspersor**

**Suelo preparado para cultivo.**

**EQUIPO:**

Agitador Cole-Palmer, Modelo 4803-00.

Balanza Analítica.- Ohaus Analytical Plus. Modelo AP110S.

Balanza Semianalítica.- Ohaus. Modelo GT 2100.

Centrífuga Beckman J-21 con rotor de ángulo fijo JA-20

Centrífuga clínica modelo CL-197 A.

Espectrofotómetro Beckman modelo DU-650.

Licuada Osterizer Custom modelo L-21.

Oxímetro YSI 5300 acoplado a registrador Beckman.

Potenciómetro Corning modelo 12 acoplado a registrador Kipp & Zonen BD-40

04/05.

Proyector Refacta AF 1800. Lamp 24V/150W.

Vortex GENIE modelo K-550-G.

Campana de flujo laminar.

Incubadora WTC binder a 28, Autoclave clínica.

Espectrofotómetros: Varian Cary-5, Nicolet Magna 750, Perkin Elmer 283 y TGA

T&AT.

**Reactivos.** Todos los reactivos utilizados son de grado 1, grado analítico, grado

reactivo de las marcas Sigma, Aldrich, J.T. Baker y Merck.

Acetona.

Acido ascórbico.

Acido clorhídrico.

EDTA (Acido etilendiaminotetraácetico).

Acido sulfúrico.

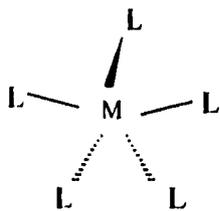
## COMPUESTOS:

Los compuestos de coordinación de MBC con sales metálicas utilizados en este trabajo fueron sintetizados usando el método general de síntesis que se describe en la pagina 24, y caracterizados analítica y espectroscópicamente y cuando se obtuvieron cristales se estudiaron por difracción de rayos-X.

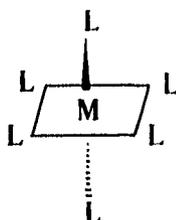
Con los resultados obtenidos se propusieron las siguientes fórmulas mínimas con sus respectivas geometrías:

| COMPUESTO   | COLOR          | GEOMETRIA       |
|---|----------------|-----------------|
| 1) $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$         | verde seco     | PENTACOORDINADA |
| 2) $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | verde claro    | OCTAÉDRICA      |
| 3) $[\text{Ni}(\text{MBC})\text{Cl}_2 (\text{H}_2\text{O})_2]$                  | verde limón    | OCTAÉDRICA      |
| 4) $[\text{Ni}(\text{MBC})_2(\text{NO}_3)_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$         | verde jade     | OCTAÉDRICA      |
| 5) $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$             | azul claro     | TETRAÉDRICA     |
| 6) $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$             | azul eléctrico | TETRAÉDRICA     |

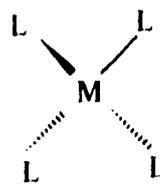
Tipos de geometrías:



PENTACOORDINADA



OCTAÉDRICA



TETRAÉDRICA

ADP (ácido adenosin difosfato).

ATP (ácido adenosin trifosfato).

DCMU (3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea)

DCIP (2,6 diclorofenolindofenol)

DBMIB (2,5-dibromo-3-metil-6-isopropil-p-benzoquinona)

Cianuro de potasio.

Cloruro de potasio.

Cloruro de magnesio.

Cloruro de amonio.

Dimetilsulfóxido.

DPC (Difenilcarbácida).

Etol.

Ferricianuro de potasio.

Hidróxido de sodio.

HEPES (N [ácido 2- etanosulfónico -N'-[ 2-Hidroxyetil]piperazina]).

Metilviológeno.

MES ( Acido etanosulfónico- 2-[N-morfolino]).

N,N DMF (N,N, dimetil formamida).

Sacarosa.

Silico molibdato de sodio.

Sorbitol.

Tricina.

Tetrametil-p-benzohidroquinona.

Tris. y FCCP (carbonil cianuro *p*-trifluorometoxifenilhidrazona).

## **MATERIAL BIOLÓGICO:**

Hojas de espinaca (*Spinacea oleracea*) frescas y turgentes.

### **SEMILLAS DE PLANTAS DE USO AGRÍCOLA:**

Tomate (*Physalis ixocarpa*)

Trigo (*Triticum vulgare*)

### **SEMILLAS DE MALEZAS:**

Zacate Johnson (*Shorgum halepense*)

Casia (*Cassia obtusifolia*)

Salvia (*Salvia microphylla*)

(*Echinochloa crusgalli*)

## **B. DESARROLLO METODOLÓGICO.**

- 1.- SÍNTESIS DE COMPUESTOS DE COORDINACIÓN.
- 2.- CARACTERIZACIÓN ANALÍTICA Y ESPECTROSCÓPICA DE LOS COMPUESTOS.
- 3.- CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO EN FOTOSÍNTESIS, *IN VITRO* , *IN VIVO* DE LOS COMPUESTOS DE COORDINACIÓN OBTENIDOS.
  - 3.1.- AISLAMIENTO DE CLOROPLASTOS DE HOJAS DE ESPINACA.
  - 3.2.- DETERMINACIÓN DE CLOROFILA TOTAL.
  - 3.3.- DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DEL TRANSPORTE DE ELECTRONES EN LOS CLOROPLASTOS.
  - 3.4.- EFECTO DE LOS COMPUESTOS EN LA SÍNTESIS DE ATP (FOTOFOSFORILACIÓN).
  - 3.5.- DETERMINACIÓN DE CAPTACIÓN DE PROTONES.

### 3.6.- ENSAYOS SOBRE LAS HOJAS DE PLÁNTULAS *IN VIVO*. ACTIVIDAD HERBICIDA EN MALEZAS Y PLANTAS AGRÍCOLAS

#### 4.- EXPERIMENTOS DE GERMINACIÓN.

#### 5.- EFECTO DE LOS COMPUESTOS EN RESPIRACIÓN DE SEMILLAS.

### 1.- METODOLOGIAS PARA LA PURIFICACIÓN DEL MBC Y SÍNTESIS DE LOS COMPUESTOS DE COORDINACIÓN DE CARBENDAZIM (MBC) CON IONES METÁLICOS:

Lo primero que se llevó a cabo fue la purificación del MBC ó carbendazim comercial (Aldrich) con el cual se realizaron las síntesis, de manera que se investigaron en la literatura los métodos de purificación de dicho compuesto (el 2-metil bencimidazol carbamato) y los solventes usados; a la fecha nadie ha reportado métodos para purificarlo, tampoco se reporta la obtención de cristales del MBC, por ello probé con varios disolventes hasta que se logró disolver 0.5 g de MBC en 500 ml de N-N dimetil formamida, a 75 °C en baño de agua, filtrando posteriormente, dejando en reposo a temperatura ambiente hasta que aparecen los cristales de MBC, se determinó el espectro IR tanto del ligante puro como impuro para definir algún cambio considerable y se comparó con lo reportado en la literatura (Mayer y Bayer, 1976).

Posteriormente se sintetizaron los compuestos derivados de 2- metil bencimidazol carbamato (MBC ó Carbendazim) con los metales de transición: cobalto, cobre y níquel, de acuerdo al siguiente método general de síntesis:



donde:

**MBC= 2-metilbenzimidazol carbamato ó Carbendazim**

**M= Co<sup>+2</sup>, Cu<sup>+2</sup>, Ni<sup>+2</sup>.**

**X= Cl<sup>-1</sup>, CH<sub>3</sub>COO<sup>-1</sup>, ó NO<sub>3</sub><sup>-1</sup>**

Con el compuesto puro, se hicieron cálculos estequiométricos para pesar las milimoles de reactivo a utilizar en la reacción, tanto de MBC como de la sal metálica correspondiente en cada reacción, para iniciar con proporciones 1:1, 1:2 y 1:4, y se pusieron a reflujo por 8 hrs. en un disolvente orgánico, tal como se han sintetizado otros compuestos de coordinación de otros derivados imidazólicos( Barba-Behrens y Cols., 1993). Se cristalizaron los compuesto

obtenidos cambiando la polaridad del disolvente y se procedió a caracterizarlos, tanto espectroscópica como analíticamente.

## **2.- CARACTERIZACION ANALÍTICA Y ESPECTROSCÓPICA DE CADA COMPUESTO SINTETIZADO:**

A los compuestos sintetizados se les determinó el punto de fusión, tanto a los reactivos como a los productos de la síntesis, para ver si se presentaron diferencias en la temperatura de fusión, es decir, si se obtuvieron compuestos nuevos; en caso afirmativo se realizaron los análisis elementales a cada compuesto con lo que se puede proponer la fórmula mínima del compuesto sintetizado, se les determinó el espectro Infrarrojo con el cual se pudieron identificar los grupos funcionales, tipos de enlaces así como los cambios o alteraciones de las bandas que sirvieron para caracterizar al compuesto original. Si los compuestos sintetizados son susceptibles a la determinación espectroscópica por reflectancia difusa, se determinó su espectro electrónico, para determinar las posibles estructuras existentes en los compuestos sintetizados, luego, cuando es necesario para complementar su caracterización se realizaron los análisis termogravimétricos, de esta forma se determina, por medio de las temperaturas en las que se pierde el peso que corresponde a las moléculas de agua de hidratación ó de coordinación, etc, para definir la estructura y fórmula del compuesto. En algunos casos se analizaron por difracción de rayos-X para definir su estructura, cuando se obtuvieron en forma cristalina.

Como continuación de este trabajo se determinó si existe alguna relación entre las estructuras de los compuestos sintetizados y su actividad biológica. Estas determinaciones se hacen tal como se han caracterizado otros compuestos de coordinación con los que se han llevado a cabo estudios de estructura-actividad con el mismo enfoque (Barba-Behrens y Cols. 1990 ; Peña-Valdivia y Lotina Henssen, 1990 ; Calera y Cols., 1995 ; Terada, 1990).

## **3.- CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA:**

En el presente trabajo de tesis, se caracterizaron:

1.-El efecto sobre los procesos fotosintéticos (experimentos *in vitro* con cloroplastos aislados) del MBC (2-metil bencimidazol carbamato) y sus compuestos de coordinación sintetizados.

- 2.- Ensayos para ver el efecto de los compuestos sobre las hojas de plántulas de malezas y de gramíneas de uso agrícola.
- 3.- El efecto de los mismos compuestos en la germinación de semillas de malezas y gramíneas de uso agrícola.
- 4.- El efecto de los mismos compuestos en la respiración de semillas tanto de malezas como de gramíneas de uso agrícola.

Los experimentos de germinación, de respiración y de asperción sobre plántulas *in vivo* se realizaron en dos tipos de malezas (hoja ancha y hoja angosta) y en dos tipos de gramíneas (hoja ancha y hoja angosta), todo con el objeto de estudiar selectividad (pre-emergente ó post-emergente) en la actividad herbicida de los compuestos propuestos. Así, por ejemplo, los experimentos efectuados en germinación, ayudan a definir la selectividad de acción de los compuestos propuestos en esta tesis.

**3.1 METODOLOGÍA PARA AISLAMIENTO DE CLOROPLASTOS.**- Como ya se mencionó, el cloroplasto se utiliza como modelo biológico, para diseño de síntesis y caracterización de los compuestos que afectan a la fotosíntesis. Por tal motivo, es necesario aislar cloroplastos para realizar las determinaciones necesarias.

Dicho aislamiento, se hizo de la siguiente forma:

Se utilizaron aproximadamente 30 gramos de hojas verdes y turgentes de espinaca (*Spinacea oleracea*). Todo el proceso se llevó a cabo en obscuridad y a temperatura de 0-5 °C, las hojas se lavaron con agua destilada, se fraccionaron y se colocaron en un vaso de licuadora con 150 ml de medio para aislar cloroplastos (Sacarosa 400 mM, Tricina 30 mM, KCl 20 mM, MgCl<sub>2</sub> 5 mM ajustado a pH=8.0 con KOH), se homogenizó en una licuadora (osterizer, modelo L-21, 2 velocidades) durante 5 segundos a velocidad máxima, se filtró a través de 20 capas de gasa, el filtrado se centrifugó a 4000 rpm durante 5 minutos a 4°C (centrífuga Beckman J2-21, rotor de ángulo fijo JA-20). El botón obtenido se resuspendió en 1-2 ml del mismo medio de aislamiento con un pincel de fibras suaves, (19, 30).

### 3.2. DETERMINACION DE CLOROFILA.

Se cuantificó por el método de Arnon, (1949); mejorado posteriormente (Martmann y Cols., 1988). Se aforó una alícuota de 50  $\mu$ l de la suspensión de cloroplastos obtenida a 5 ml en acetona al 80% en H<sub>2</sub>O (v/v), se agitó y se dejó reposar durante 5 minutos en la obscuridad para permitir la extracción y solubilización de la clorofila en acetona y evitar su degradación por luz, posteriormente se centrifugó durante 5 minutos a 200 rpm (centrífuga clínica E.I. CL 197A) para separar proteínas y residuos de cloroplastos, se decantó en celdas de cuarzo para leer absorbancia a 645 nm y 663 nm por espectrofotometría (Espectrofotómetro Beckman DU 650), utilizando acetona al 80% como blanco y se aplicó la siguiente ecuación:

$$[\text{clo}] = [8.05(A_{663}) + 20.29(A_{645})] 5$$

Donde:

$$[\text{clo}] = \mu\text{g de Clorofila/ml}$$

8.05 y 20.29= constantes derivadas de los coeficientes de extinción.

$A_{663}$  y  $A_{645}$  = lecturas de absorbancias hechas a 663 y 645  $\text{cm}^{-1}$

5= Factor de dilución.

### 3.3. TRANSPORTE DE ELECTRONES.

**Determinación de la velocidad del transporte de electrones:** El oxígeno liberado en la fotólisis del agua acompañado de la reducción de un aceptor (en este caso metilviológeno ya que mantiene la formación máxima de oxígeno y que reemplaza a ferredoxina y NADP<sup>+</sup>) (Trebst, 1972; Zweig y Cols. 1965) al iluminar los cloroplastos, se detectó en un oxímetro (oxímetro YSI 5300) con un electrodo del tipo Clark (Izawa, 1977) adaptado a un graficador Beckman, usando 60  $\mu$ g de clorofila (de la suspensión obtenida y cuantificada como se indica en los incisos 3.1 y 3.2) en 3 ml de medio para determinar el transporte de electrones (sacarosa 100 mM, KCl 5 mM, MgCl<sub>2</sub> 5mM, tricina 2 mM, metilviológeno (M.V.) 50 mM ajustado a pH=8.0 con KOH), bajo agitación e iluminación por un minuto con un haz luminoso que se pasó a través de una lente de Izawa y que consiste de una botella con solución al 5% de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, sirviendo como filtro de luz y de calor.

Para obtener la velocidad de cada reacción se calibró usando 10  $\mu\text{l}$  de ferricianuro de potasio 40  $\mu\text{M}$  en 3 ml de medio de reacción hasta la total reducción del ferricianuro con los cloroplastos (título)(Trebst, 1972).

Para calcular la velocidad de flujo de electrones, se utiliza la siguiente ecuación:

$$V = (0.4 \mu\text{eq e}^-/\text{cm título}) (60 \text{ min}/1 \text{ hrs}) (1/0.06 \mu\text{g clo}) (\text{cm problema}/1 \text{ min})$$

Donde:

$$V = \text{Velocidad del flujo de electrones en } (\mu\text{eq de e}^-)(\text{hrs}^{-1})(\mu\text{g clo}^{-1}).$$

En base a lo anterior se determinan los siguientes transportes de electrones:

**Transporte de electrones basal.** En esta determinación sólo se midió el flujo de electrones dependiente de luz, la velocidad de éste transporte de electrones es baja por la ausencia de ADP y Pi y de un desacoplante ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) (Trebst, 1972).

**Transporte de electrones fosforilado.** Se determinó en presencia de ADP 100  $\mu\text{M}$  y Pi 300  $\mu\text{M}$  que permiten la actividad de  $\text{H}^+$ -ATP sintetasa y velocidades de 1 a 3 veces mayores que las del flujo basal (Trebst, 1972).

**Transporte de electrones desacoplado.** Se adicionaron 3 mM de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  como desacoplante, compuesto que promueve la disipación de energía libre generada en el transporte de electrones, observándose máxima velocidad del flujo de electrones (MaCarty, 1977; Mitchell, 1977; Trebst, 1972).

### 3.4 FOTOFOSFORILACION

**Fotofosforilación** (síntesis de ATP). Por esta técnica se registró el consumo de protones por la  $\text{H}^+$ -ATPasa para la síntesis de ATP. El potencial electroquímico de protones generado a través de la membrana tilacoide por el transporte de electrones de  $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{M.V.}$  es utilizado para activar la enzima ( $\text{H}^+$ -ATP sintetasa) y sintetizar ATP (Boyer y Cols., 1977; Junge, 1970). La reacción se llevó a cabo en un medio para las determinaciones potenciométricas (Sorbitol 100 mM,  $\text{MgCl}_2$  5mM, KCl 100 mM, HEPES 50 mM, MV 50 mM ajustado a pH=8.0 con KOH) además se adicionó ADP (1mM) y Pi (3mM) [10], bajo agitación e iluminación, la respuesta se determinó potenciométricamente (Potenciómetro Corning Modelo 12 de escala expandida, acoplado a un registrador Kipp & Zonen BD-40 04/05). Se calibró con 10  $\mu\text{l}$  de KOH 0.007M; al final se agregan 7  $\mu\text{L}$  de solución de ferricianuro de potasio 40  $\mu\text{M}$  en 3 ml (titulación). La velocidad se calculó de la siguiente manera:

$$V = A h / C$$

Donde:

$V$  = Velocidad de Sint de ATP en  $(\mu\text{moles de ATP})(\text{mg}^{-1}\text{clo})(\text{h}^{-1})$ .

$A$  =  $\mu\text{moles de H}^+$  usados en la titulación/altura de la curva en cm.

$C$  = Concentración de clorofila empleada.

$h$  = altura de la curva obtenida en cm.

### 3.5 DETERMINACIÓN DE LA CAPTACION DE PROTONES.

**Captación de protones.** Al iluminar los cloroplastos se alcaliniza el pH externo de los tilacoides debido a la captura de los  $\text{H}^+$  en el interior de la vesícula tilacoidal (Neumann y Jagendorf, 1964), lo cual es proporcional al gradiente electroquímico generado por los sitios de captación de protones (c.p.) o bombas de liberación de  $\text{H}^+$  en función del tiempo. La respuesta se cuantificó bajo las mismas condiciones de fotofosforilación sin la adición de  $\text{P}_i$  y  $\text{ADP}$ , por lo que no hay fotofosforilación, la velocidad se calcula en  $\mu\text{eq H}^+/\text{mg}(\text{clo})(\text{h})$  de la misma forma que para fotofosforilación. Los trazos que se obtienen son como los representados en la figura 4 (Boyer y Cols., 1977).

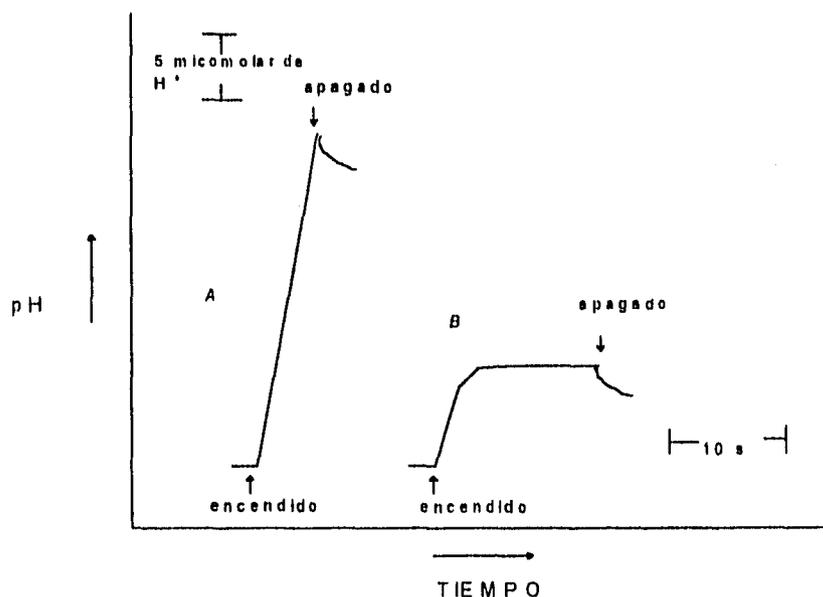


Figura 4. Representación de los trazos obtenidos por potenciometría. (A) fotofosforilación y (B) captación de protones, por el incremento de pH observado cuando un haz de luz se incide sobre la suspensión de cloroplastos y se inicia la determinación.

### **Mg<sup>2+</sup>-ATPasa.**

La actividad de la Mg<sup>2+</sup>-ATPasa se determinó por el método de Mills y Cols., (1980); en base a lo reportado por (Golbeck y Cols., 1977).

**I. Aislamiento de cloroplastos intactos.** Se homogenizaron hojas de espinaca en una licuadora (Osterizer, Modelo L-21) con 150 ml de medio de aislamiento (Sorbitol 0.35 M, ácido ascórbico 5 mM, MES 20 mM. pH=6.5) durante 5 segundos a 200 rpm, se filtró a través de 5 capas de gasa, el filtrado se centrifugó a 4850 rpm por 4 minutos a 4°C, el botón obtenido se lava con 40 ml de medio de aislamiento, se centrifugó de la misma manera, el botón obtenido de ésta centrifugación se resuspende en 1 ml de medio de suspensión (Sorbitol 0.35 M, EDTA 2 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, HEPES 50 mM. pH=7.6); posteriormente se cuantificó clorofila por el método de Arnon (1949), descrito en el punto 3.2, con éste dato se ajustó la concentración de la suspensión a 0.3 mg de clorofila por ml.

**Activación de Mg<sup>2+</sup>-ATPasa:** 0.1 ml de suspensión de cloroplastos con 0.3 mg de clorofila por ml obtenidos del aislamiento se adicionó en 0.25 ml de medio 1 (Sorbitol 1.2 M, Tricina 100 mM. pH=8.0) y 0.65 ml de medio 2 (MgCl<sub>2</sub> 5 mM, Tricina 15 mM. pH=8.0) para lisar la doble membrana del cloroplasto, se iluminó durante 1.5 minutos con un haz luminoso filtrado por un lente de Izawa y con agitación suave.

**Hidrólisis de ATP:** 0.1 ml de cloroplastos activados se adicionaron inmediatamente a 0.9 ml de medio para determinar ATPasa (MgCl<sub>2</sub> 2 mM, ATP 2.2 mM, Tricina 15 mM. pH=8.0). El proceso se realizó en la obscuridad absoluta con agitación suave durante 1 minuto. La reacción se suspendió adicionando 0.5 ml de ácido tricloroacético al 20 % en agua (p/v) con agitación fuerte usando vortex.

**Cuantificación de fosfato:** Las proteínas precipitadas se eliminaron por centrifugación a 300 rpm durante 5 minutos en una centrífuga clínica (Modelo-CL). El fosfato liberado se cuantificó por el método colorimétrico de Fiske-Subbarow (Mitchel, 1977). Una alícuota del sobrenadante con un contenido máximo de 1 μMol de fosfato, se aforó a 1.6 ml, se adicionó 0.25 ml de una solución al 6 % en agua p/v de (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O, 0.25 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 7.5 N, se agitó y de inmediato se adicionó 0.2 ml de sulfato ferroso al 10 % en agua acidificada p/v (98 ml de H<sub>2</sub>O + 2 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 7.5 N) se agitó y a los 20

minutos se determinó la cantidad de fosfato espectroscópicamente con mediciones a 660 nm (Espectrofotómetro Beckman DU-650). Al mismo tiempo se determinó una curva patrón con  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en un rango de concentraciones de 0.5  $\mu\text{M}$  a 1  $\mu\text{M}$ .

#### **PREPARACION DE SOLUCIONES.**

Los compuestos se disolvieron en el medio de reacción que se utilizó para cada ensayo, medio para transporte de electrones, medio para determinar fotosistemas, medio para determinaciones potenciométricas y medio para la determinación de ATPasa, utilizando como cosolvente N,N DMF en una concentración del volumen final no mayor del 0.5%, agitándose en vortex antes de su aplicación a la cubeta de reacción.

#### **3.6 ENSAYOS SOBRE HOJAS DE PLÁNTULAS *IN VIVO*. PROCEDIMIENTO PARA EVALUAR EL EFECTO POST-EMERGENTE DE MALEZAS Y GRAMÍNEAS DE USO AGRÍCOLA.**

En base al método reportado (Trebst y Draber, 1978) y complementado posteriormente (Walton, 1988), al inicio se ponen a germinar semillas sobre algodón humedecido con agua destilada y cuando aparecen raíces se trasplantan en macetas con suelo (previamente esterilizado en autoclave para eliminar posibles fuentes de contaminación); se riegan regularmente con agua destilada y cuando se tienen plántulas con hojas de unos 2 a 4 cm se rocian con un aspersor a unos 5 - 7 cm de distancia con las soluciones de compuestos usados en respiración y germinación a las concentraciones que mostraron algún efecto, marcando la concentración y el compuesto en cada una y dejando uno o dos controles a los que no se les agrega ningún compuesto. Todas se mantienen en condiciones de invernadero y se rocian cada 48 horas. Cuando se puede apreciar algún efecto, se comparan las diferencias en relación al control y se fotografian para apreciar el efecto de los compuestos en plántulas *in vivo*, y así determinar los efectos en condiciones de post-emergencia.

#### **4. EVALUACION EL EFECTO DEL CARBENDAZIM Y SUS COMPUESTOS DE COORDINACION EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS (Moreno y MaCarty, 1977).**

Se esterilizaron pipetas, matraces y cajas de petri con papel filtro whatman del # 2, así como el agua destilada (para preparar las soluciones de los compuestos), en el autoclave a presión de 18  $\text{kg/m}^2$  por 15 minutos.

Se desinfectaron las semillas utilizadas con una solución de hipoclorito de sodio al 5 % durante 5 minutos y terminado esto se enjuagaron en agua destilada esteril.

Se preparò una àrea estéril dentro de una campana de flujo laminar para evitar contaminación, allí se colocaron en las cajas de petri (cinco para cada concentración), el número de semillas que a continuación se indican en la tabla 1. Posteriormente se agregaron 7 ml de los compuestos a las siguientes concentraciones: 0, 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{M}$  para ensayar su efecto en la germinación. Se preparan series de 4-5 cajas de petri para cada concentración, para luego calcular media y desviación estándar. A continuación se procedió a sellar las cajas con papel parafilm para evitar la evaporación de las soluciones de compuestos, mantener la humedad y aeración adecuada. Se colocaron en una incubadora a 28 °C en completa oscuridad, de 24 a 96 hrs.

Pasado el tiempo se procedió a contar el número de semillas que germinaron y calcularon en % de inhibición, también se fotografiaron; esto sirvió para evaluar de manera objetiva si los compuestos inhiben o activan la germinación para obtener las características de herbicidad pre-emergente.

##### **5. PROCEDIMIENTO A SEGUIR PARA EVALUAR EL EFECTO DE LOS COMPUESTOS EN EL PROCESO DE RESPIRACIÓN DE SEMILLAS DE MALEZAS Y PLANTAS DE USO AGRÍCOLA (Moreno y MaCarty, 1977).**

Desinfectar las semillas a utilizar con una solución de hipoclorito de sodio al 5 % durante 5 minutos y terminado esto se enjuagaron en agua destilada esteril. Se colocan en las cajas de petri previamente esterilizadas el número de semillas que a continuación se indican en la tabla I,

Posteriormente se agregaron 7 ml de los compuestos a las siguientes concentraciones: 0, 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{M}$  para ensayar su efecto en la respiración de semillas, para cada concentración se usaron 5 cajas. A continuación se procedió a sellar las cajas con papel parafilm para evitar la evaporación de las soluciones de compuestos, mantener la humedad y una aeración adecuada. Se colocaron en una incubadora a 28°C a completa oscuridad durante 24 horas, transcurridas las cuales se colocan en la cubeta, donde por medio del electrodo Clark conectado a un oxímetro con graficador, se mide la cantidad de oxígeno de la respiración de semillas de cada caja a diferente concentración. Se determinó la respiración a las 24, 48 y 72 horas para

cada concentración, mantenidas a 28°C (excepto cuando se llevan al oxímetro), y luego se calcularon en % de actividad con respecto al control, el efecto se reporta como velocidad (nanoátomos de O<sub>2</sub>)(hr<sup>-1</sup>)(semilla), esto se hace para evaluar a los compuestos con características de herbicidad pre-emergente de manera cuantitativa, se repite el experimento de tres a cinco veces para validarlo y calcular la desviación estándar. Es importante mencionar que el experimento se suspende cuando las semillas empiezan a germinar.

**Tabla 1. NÚMERO DE SEMILLAS USADAS EN CADA CAJA PETRI, EN LOS EXPERIMENTOS DE GERMINACIÓN Y RESPIRACIÓN.**

| TIPO DE SEMILLAS                                    | GERMINACIÓN | RESPIRACIÓN. |
|---|-------------|--------------|
| Trigo ( <i><u>Triticum vulgare</u></i> )            | 20          | 20           |
| Tomate ( <i><u>Physalis ixocarpa</u></i> )          | 100         | 300          |
| Casia ( <i><u>Cassia obtusifolia</u></i> )          | 20          | 20           |
| Zacate Johnson ( <i><u>Shorghum halepense</u></i> ) | 50          | 100          |

## CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

### SÍNTESIS DE COMPUESTOS DE CARBENDAZIM:

Siguiendo el método general de síntesis propuesto en esta tesis, se han obtenido hasta el momento 20 compuestos de coordinación de MBC, con metales de transición (Cobre, Cobalto y Níquel); en el presente estudio únicamente se estudiaron algunos que se consideran más interesantes para realizarlo, por ser los que están caracterizados plenamente y por que se representan a las diferentes estructuras obtenidas hasta el momento (tabla 2). Para sintetizar el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]4\text{H}_2\text{O}$  se siguió el método (página 24), sin ninguna modificación pero no cristalizó, por eso se repitió la reacción modificando el pH, que originalmente era de 8.1 a  $\text{pH}=5.8$ ; también la proporción original de 2:1 a 4:1, obteniendo el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  en estas condiciones de reacción, lo cual posiblemente ayudó a que se obtuvieran cristales de buen tamaño para llevar a cabo el estudio de rayos-X.

Para la síntesis de compuestos de Níquel se utilizó el mismo método, pero como no reaccionaba, fué necesario incrementar los tiempos de reacción de 8 hrs. a 48 horas de reflujo a temperatura constante ( $85^\circ\text{C}$ ) en estas condiciones y con diferentes sales, se obtuvieron los compuestos  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$ ,  $[\text{Ni}(\text{MBC})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ,  $[\text{Ni}(\text{MBC})_2(\text{NO}_3)_2]2\text{H}_2\text{O}$ . Para obtener el compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]\text{H}_2\text{O}$  se intentó con diversos disolventes y en varias proporciones, encontrándose que MeOH/EtOH 3:1 fué la mejor. En la tabla 2 se muestran los resultados de analisis elemental de los compuestos sintetizados:

TABLA 2. ANALISIS ELEMENTAL DE LOS COMPUESTOS DE COORDINACION DE MBC SINTETIZADOS

| COMPUESTO  | COLOR       | EXPERIMENTAL<br>TEÓRICO |      |       |
|--|-------------|-------------------------|------|-------|
|  |             | % C                     | %H   | %N    |
| 1) $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]\text{H}_2\text{O}$  | verde seco  | 34.01                   | 3.47 | 10.51 |
|  |             | 34.95                   | 4.38 | 10.75 |
| 2) $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$ | verde claro | 41.09                   | 4.34 | 11.13 |
|  |             | 42.43                   | 4.11 | 11.42 |
| 3) $[\text{Ni}(\text{MBC})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$            | verde limón | 30.03                   | 4.92 | 10.65 |
|  |             | 30.30                   | 4.87 | 11.78 |
| 4) $[\text{Ni}(\text{MBC})_2(\text{NO}_3)_2]2\text{H}_2\text{O}$         | verde jade  | 36.40                   | 3.75 | 18.11 |
|  |             | 35.97                   | 3.69 | 18.64 |
| 5) $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]4\text{H}_2\text{O}$             | azul        | 37.70                   | 3.86 | 14.29 |
|  |             | 37.00                   | 4.49 | 14.38 |
| 6) $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$             | azul fuerte | 40.73                   | 3.89 | 15.50 |
|  |             | 40.77                   | 3.80 | 15.85 |

## CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA Y ANALÍTICA.

Las fórmulas mínimas propuestas están de acuerdo con los análisis elementales presentados. A continuación se discuten con los resultados espectroscópicos y análisis termogravimétricos correspondientes, como se han reportado trabajos realizados, con el mismo enfoque (Barba-Behrens y Cols., 1993).

### Caracterización del compuesto $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\cdot\text{H}_2\text{O}]$ :

En el espectro de infrarrojo medio ( figura 5) del compuesto de cobre ( tabla 3), cuya fórmula se propone como  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\cdot\text{H}_2\text{O}]$ , se observan cambios en relación con el espectro del ligante MBC del que se partió (figura 5); las bandas que se localizan en la región de  $2700\text{ cm}^{-1}$  a  $3000\text{ cm}^{-1}$  desaparecen, así como la banda asignada como  $\nu(\text{C}=\text{N})$  originalmente en  $1595\text{ cm}^{-1}$ , se desplaza a  $1587\text{ cm}^{-1}$ , lo que indica que el ligante se encuentra coordinado a el cobre por medio del nitrógeno imidazólico (Nakamoto, 1989). La banda del MBC debida a la vibración  $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{st}}$  del carboxilo del grupo carbamato, se encuentra desplazada de  $1719\text{ cm}^{-1}$  a  $1629\text{ cm}^{-1}$ , con ello se observa que el Carbendazim también se coordina por el carboxilo del grupo cabamato al átomo de cobre, como se propuso en la hipótesis.

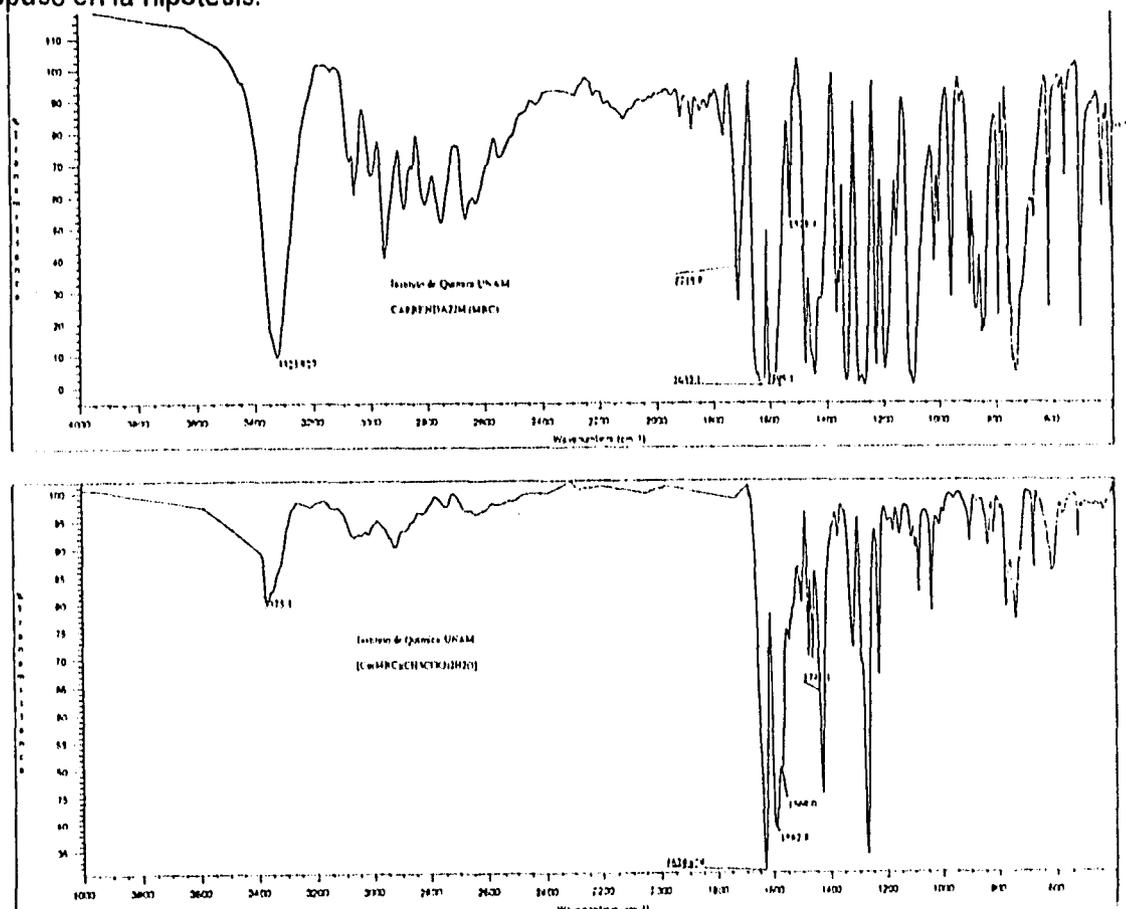


Figura 5. Espectros de IR medio del MBC y del compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\cdot\text{H}_2\text{O}]$ .

En el espectro IR del compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$ , también se observa (figura 5), la aparición de nuevas bandas que se presentan en  $1569\text{ cm}^{-1}$  y en  $1441\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a las asignadas a  $\text{V}_{\text{as}}(\text{COO})_{\text{-st}}$  y  $\text{V}_{\text{s}}(\text{COO})_{\text{-st}}$  del acetato y cuya diferencia en este compuesto es  $\Delta V=128\text{ cm}^{-1}$ . Este valor corresponde al de un grupo carboxilo unido a un metal en forma monodentada (Nakamoto, 1989).

En la gráfica del análisis termogravimétrico (figura 6) del compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$  se tiene una pérdida de peso de 7.22% (0.7058 mg de la muestra), que se inicia después de los  $100^\circ\text{C}$  y termina después de los  $200^\circ\text{C}$ , por estas temperaturas y por los cálculos estequiométricos que indican la pérdida de peso correspondiente a una molécula de  $\text{H}_2\text{O}$  que se localiza en la esfera de coordinación del compuesto, por la energía que se requiere para perderla; y aproximadamente a  $300^\circ\text{C}$  se observa el patrón de descomposición. Esto es congruente con la determinación del punto de fusión en el cual se observa que a partir de  $280^\circ\text{C}$  el compuesto cambia de color de verde a verde oscuro, para finalmente quedar café oscuro y sublimar a más de  $300^\circ\text{C}$ .

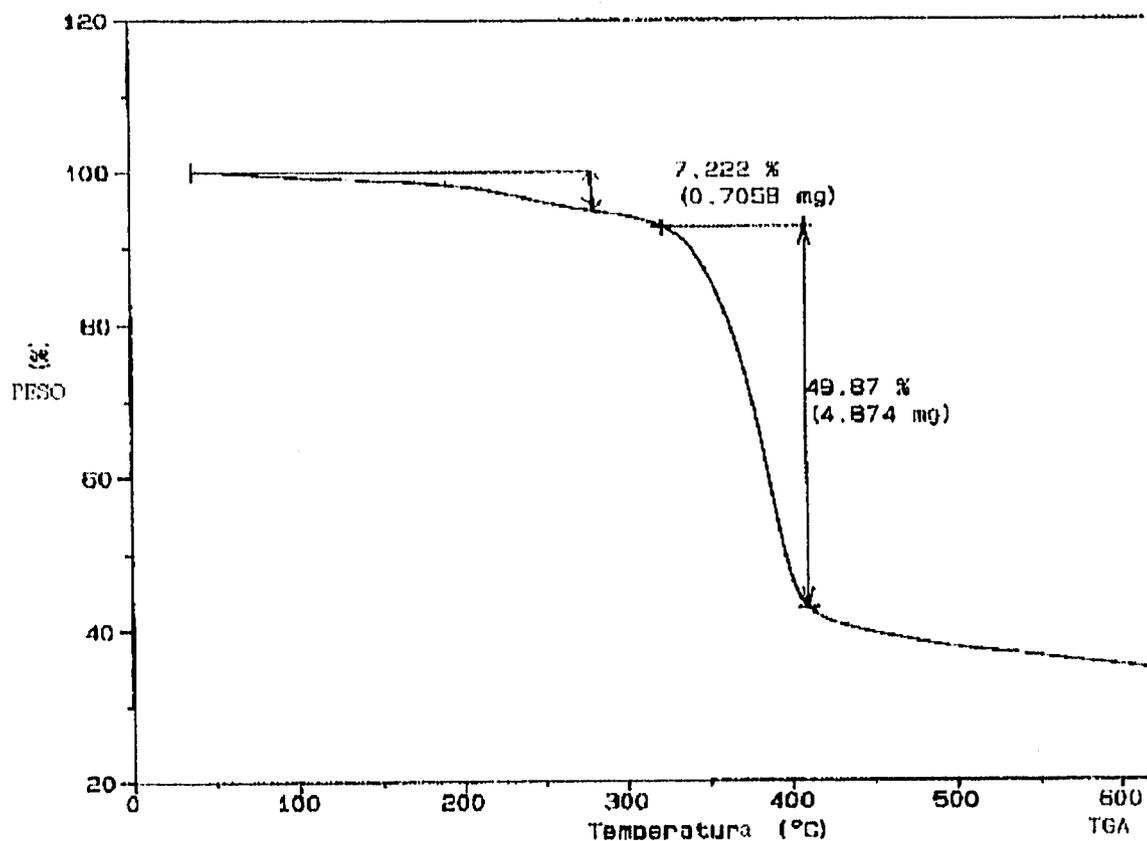


Figura 6. Gráfica del análisis termogravimétrico del compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$ .

El espectro electrónico de reflectancia difusa (figura 7) del compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$  exhibe una banda ancha en  $24,710 \text{ cm}^{-1}$  que corresponde a la transferencia de carga en el compuesto de coordinación, la otra banda de menor intensidad en  $12,385 \text{ cm}^{-1}$  muestra la transición de un Cobre  $d^9$ , o sea que corresponde a la transición  $d \leftarrow d$  en la región esperada para compuestos de Cobre que presentan estructura pentacoordinada, en la parte superior se presenta (figura 7) la fórmula estructural propuesta para este compuesto.

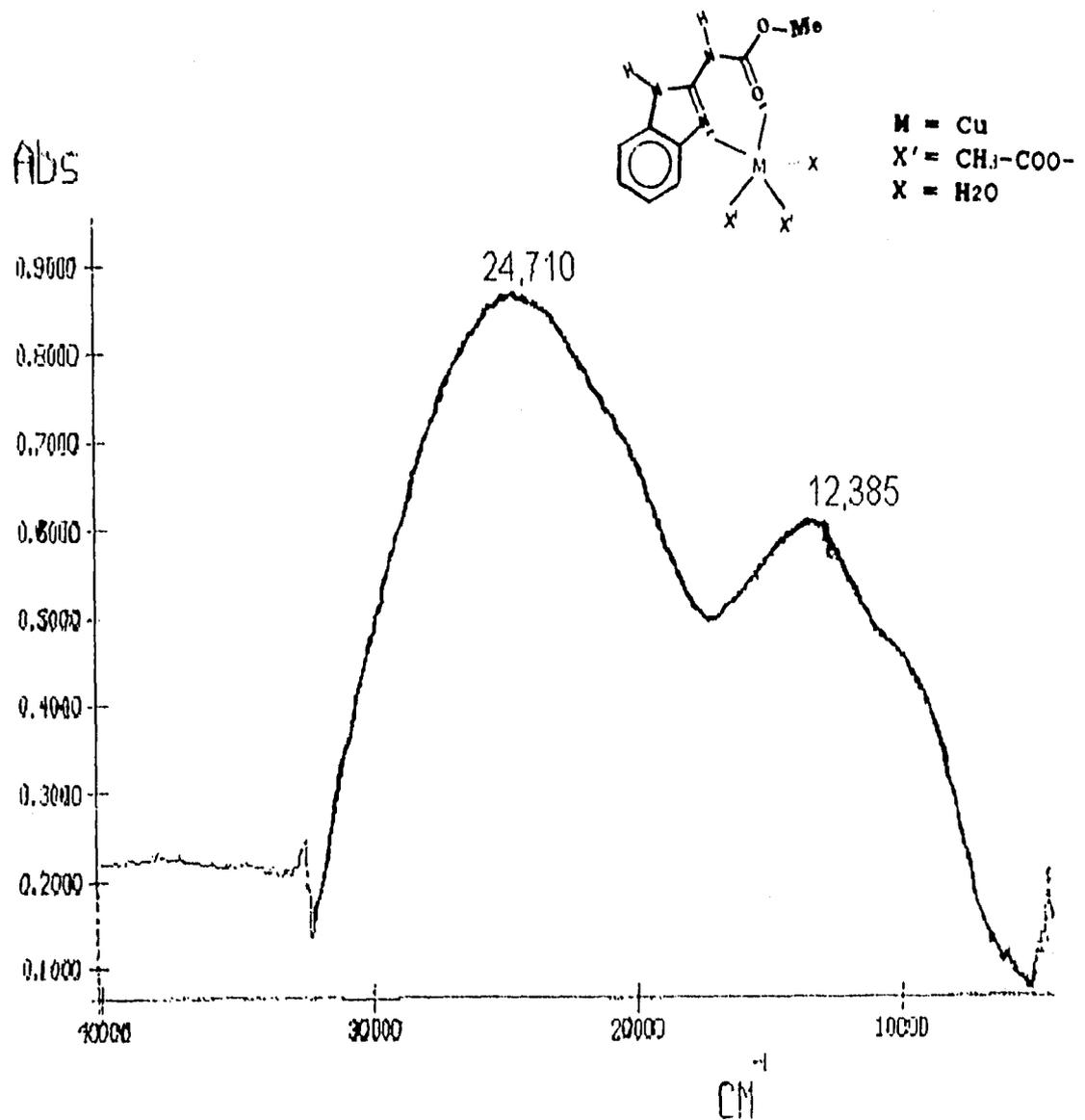


Figura 7. Espectro electrónico de reflectancia difusa del compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$ .

TABLA 3. POSICIÓN COMPARATIVA DE BANDAS DE INFRARROJO MEDIO ( $\text{cm}^{-1}$ ) DE LOS COMPUESTOS ESTUDIADOS.

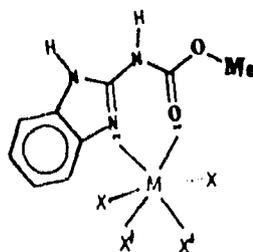
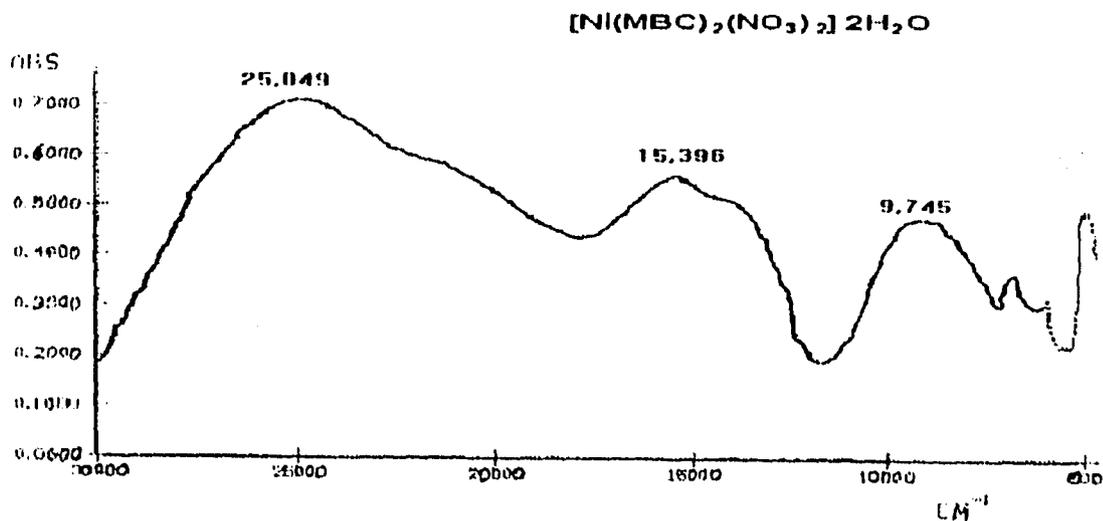
| COMPUESTO   | $V(\text{C}=\text{O})$ | $V(\text{C}=\text{N})$ | $V(\text{C}-\text{N}-\text{H})$ | $V(\text{CH}_3 \text{ COO})\text{M}$ | $V(\text{NO}_3)$ |
|---|------------------------|------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|------------------|
| MBC   | 1719                   | 1595                   | 3323                            |                                      |                  |
| $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$  | 1629                   | 1587                   | 3375                            | 1569,1441                            |                  |
| $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$ | 1697                   | 1624                   | 3384                            | 1536,1477                            |                  |
| $[\text{Ni}(\text{MBC})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$            | 1630                   | 1618                   | 3326                            |                                      |                  |
| $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{NO}_3)_2] 2\text{H}_2\text{O}$          | 1620                   | 1617                   | 3394                            |                                      | 1385,1318        |
| $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$             | 1749                   | 1587                   | 3369                            |                                      |                  |

**Caracterización de los compuestos de níquel  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$ ,  $[\text{Ni}(\text{MBC})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$  y  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{NO}_3)_2] 2\text{H}_2\text{O}$ :**

Por medio de la espectroscopía de infrarrojo (tabla 3), fué posible caracterizar a los compuestos del níquel, que por presentar bajas conductividades sabemos que no son compuestos iónicos, en todos ellos se observa el desplazamiento de la banda que corresponde a las vibraciones  $V(\text{C}=\text{O})_{\text{st}}$  del carboxilo del grupo carbamato siempre a menor energía y la banda asignada a  $V(\text{C}=\text{N})$  que en el Carbendazim (MBC) se localiza en  $1595\text{cm}^{-1}$  se desplaza a mayor energía; el cambio de posición y de forma de estas bandas indican que el MBC se coordina con el ión níquel (II) tanto por el nitrógeno imidazólico como por el carboxilo del ligante. En el caso del  $[\text{Ni}(\text{MBC})_2(\text{NO}_3)_2]2\text{H}_2\text{O}$  se observan las bandas características del grupo nitrato coordinado, la  $V_{\text{as}}$  en  $1385\text{cm}^{-1}$  y la  $V_{\text{s}}$  en  $1318\text{cm}^{-1}$ . El  $\Delta V=67\text{cm}^{-1}$ , por lo que se propone que los nitratos se encuentran coordinados como quelatos (Nakamoto, 1989).

Los espectros electrónicos de reflectancia difusa que se muestran a continuación (figura 8) y que corresponden a los compuestos  $[\text{Ni}(\text{MBC})_2(\text{NO}_3)_2]2\text{H}_2\text{O}$ , y  $[\text{Ni}(\text{MBC})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ , son muy similares, todos muestran las tres bandas esperadas para las

transiciones V1, V2 y V3, que corresponden a una geometría de tipo octaédrico para níquel (Lever, 1984), como se aprecia en la figura 8, para el compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})_2(\text{NO}_3)_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , se presentan en  $9,745\text{cm}^{-1}$ ,  $15,396\text{cm}^{-1}$ , y en  $25,049\text{cm}^{-1}$ , en estos espectros se puede ver que las bandas no son simétricas, lo que indica que existen distorsiones de la simetría octaédrica.



M = Ni  
 X' = Cl ó NO<sub>3</sub>  
 X = H<sub>2</sub>O ó MBC

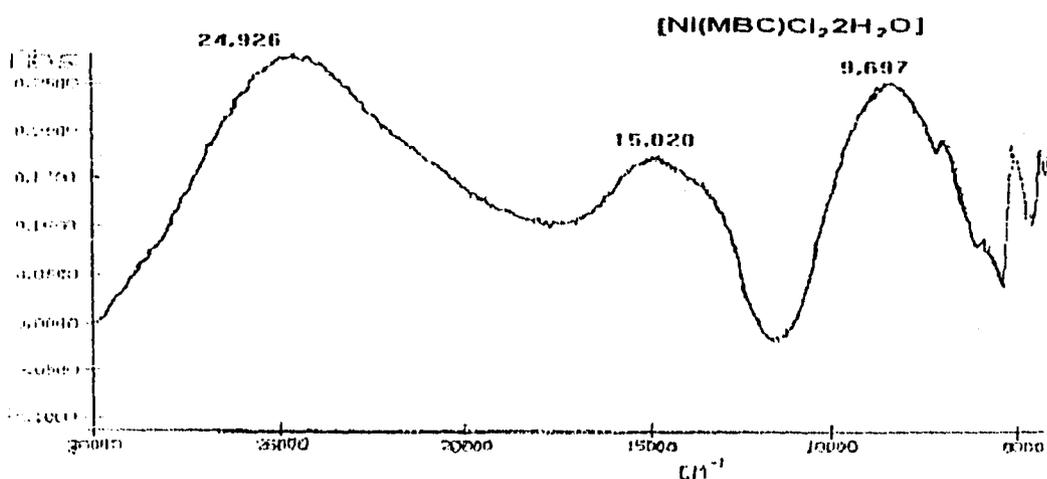


FIGURA 8. Espectros de reflectancia difusa de los compuestos de níquel  $[\text{Ni}(\text{MBC})_2(\text{NO}_3)_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , y  $[\text{Ni}(\text{MBC})\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Al centro la fórmula propuesta.

El espectro de IR medio (figura 9) del compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  muestra el desplazamiento de la banda asignada a  $\nu(\text{C}=\text{N})$  localizada en  $1595\text{cm}^{-1}$  en el ligante, a  $1624\text{cm}^{-1}$  y la banda que corresponde a las vibraciones  $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{st}}$  del carboxilo del grupo carbamato del MBC en  $1719\text{cm}^{-1}$ , en el compuesto aparece en  $1697\text{cm}^{-1}$ ; lo que indica que el ligante se encuentra coordinado al níquel por medio del grupo carboxilo y por el nitrógeno imidazólico. El espectro del compuesto también exhibe la desaparición de algunas bandas del Carbendazim, así como la aparición de bandas nuevas, como son las que se presentan en  $1536\text{cm}^{-1}$  y en  $1477\text{cm}^{-1}$  que corresponden a las asignadas a  $\nu_{\text{as}}(\text{COO}-)_{\text{st}}$  y  $\nu_{\text{s}}(\text{COO}-)_{\text{st}}$  del acetato y cuya diferencia en este compuesto es  $\Delta\nu=59\text{cm}^{-1}$ . Este valor corresponde al de un grupo carboxilo unido a un metal en forma bidentada (Nakamoto, 1989).

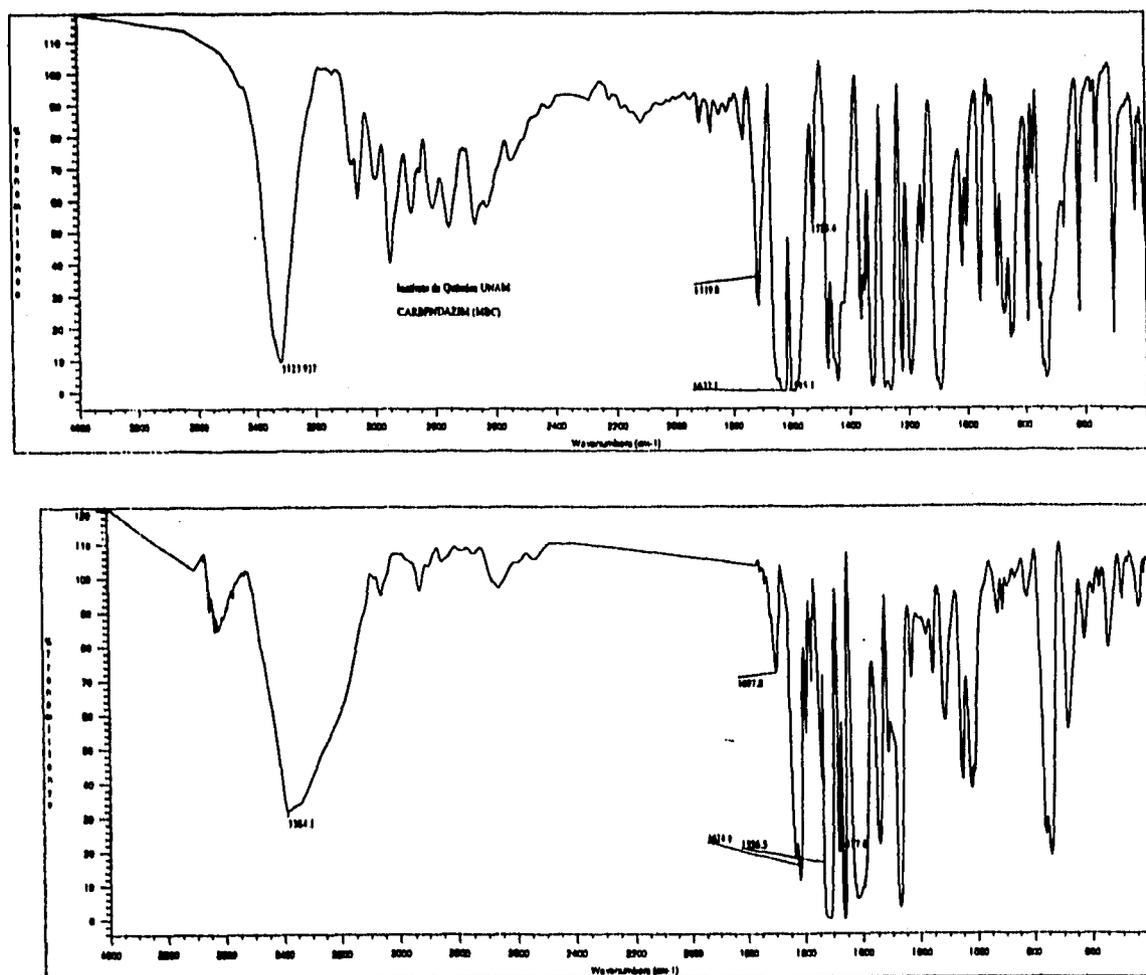


Figura 9. Espectros de IR medio de MBC y del compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

El termograma (figura 10) que corresponde al compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]_2\text{H}_2\text{O}$  muestra una pérdida de peso del 10.533% (1.2563 mg de la muestra), que se inicia antes de los 100°C y que se debe a la pérdida de dos moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$  de cristalización del compuesto, por la temperatura donde se verifica. Posteriormente se observa la pérdida paulatina del peso que corresponde al patrón de descomposición del compuesto. Al determinar su punto de fusión, se encontró que el compuesto se empieza a descomponer a partir de 170°C.

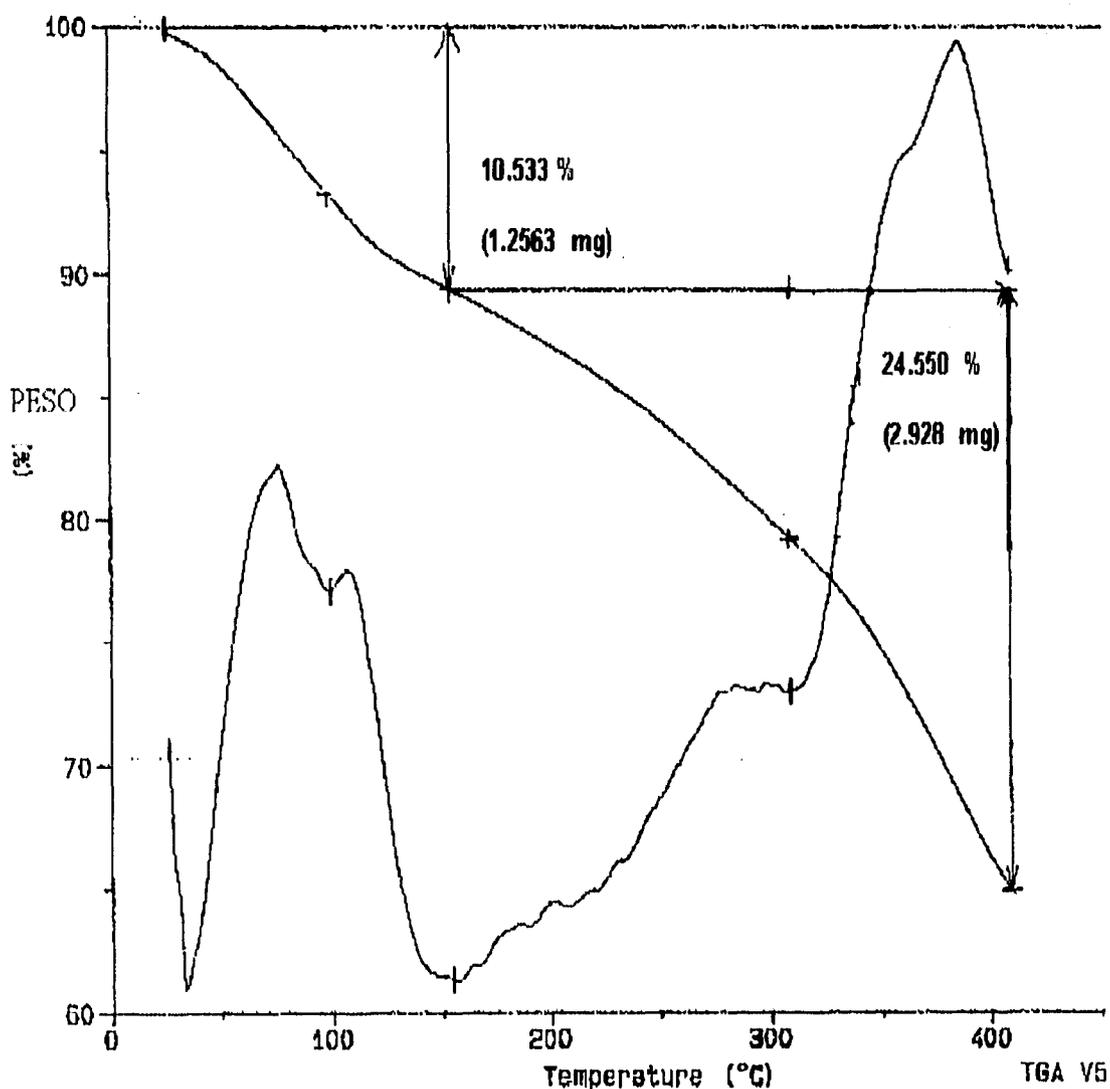


Figura 10. Gráfica del termograma del compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]_2\text{H}_2\text{O}$ . La parte inferior corresponde a la integración de la gráfica superior.

### Caracterización del compuesto $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ :

En el espectro de infrarrojo medio del compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  se muestra a continuación (figura 11), la banda del MBC que aparece en  $1595\text{ cm}^{-1}$  asignada a la vibración  $\nu(\text{C}=\text{N})$ , cambia de forma y se desplaza a  $1587\text{ cm}^{-1}$  y la banda que corresponde a las vibraciones  $\nu(\text{C}=\text{O})$  del carboxilo del Carbendazim, se desplaza de  $1719\text{ cm}^{-1}$  a  $1749\text{ cm}^{-1}$ , lo que indica que el carboxilo del ligante no se encuentra coordinado al ión cobalto pero este si se coordina por uno de los nitrógenos del MBC. A diferencia de los compuestos de cobre y de níquel donde se coordinan por el oxígeno del grupo carbamato y por el nitrógeno imidazólico.

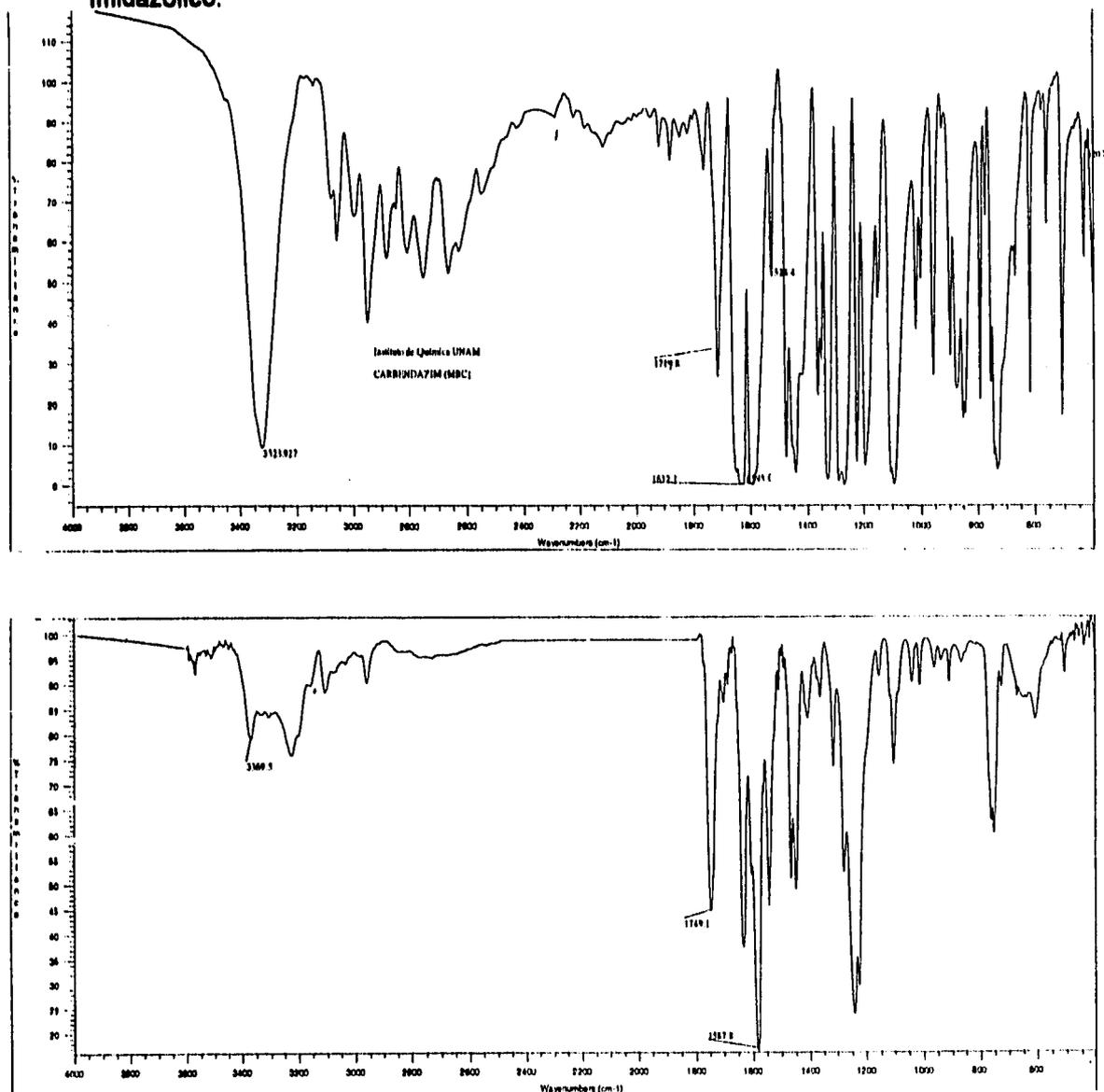


FIGURA 11. ESPECTROS DE IR MEDIO DE MBC Y DE  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

En la gráfica del análisis termogravimétrico (figura 12) del compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , se presenta alrededor de los  $100^\circ\text{C}$  una pérdida de peso, a de 4.400% (0.7194 mg de la muestra), los cálculos estequiométricos y las temperaturas donde aparecen las pérdidas de peso indican que corresponden a la pérdida de dos moléculas de agua de cristalización del compuesto. Esto es congruente con los resultados del análisis elemental del compuesto, con los que se propuso esta fórmula y que más adelante se corrobora con los resultados de la difracción de rayos-X, donde se define la estructura del compuesto.

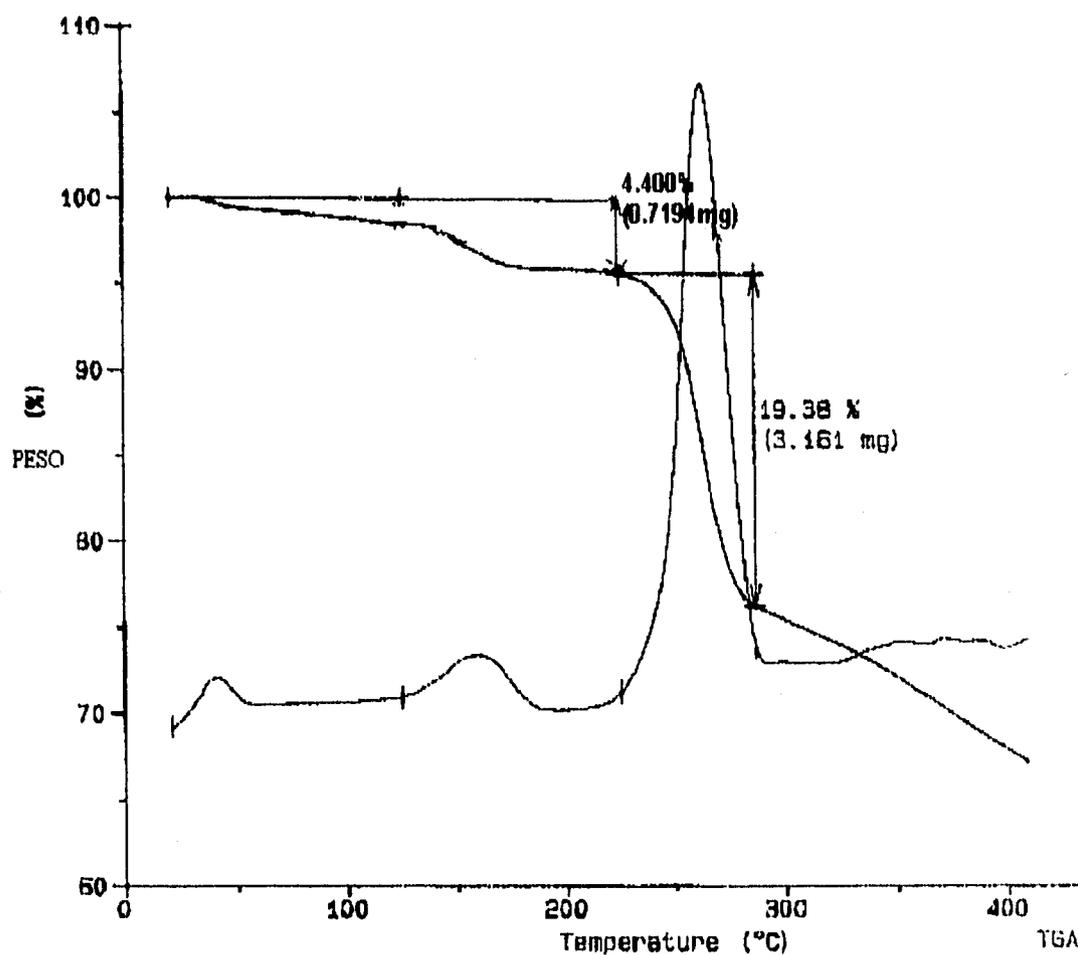


Figura 12. Termograma del compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . La gráfica inferior representa la integral de la gráfica superior.

El espectro electrónico de reflectancia difusa (figura 13) del compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , exhibe dos bandas intensas en  $9,352\text{cm}^{-1}$  y otra en  $16,680\text{cm}^{-1}$ , que corresponden a las transiciones  $V_2$  y  $V_3$  esperadas (Lever, 1984) para una geometría tetraédrica del compuesto de coordinación. De la caracterización espectroscópica se propuso un compuesto de cobalto que presenta una geometría tetraédrica, coordinado por el nitrógeno del anillo imidazólico, con dos moléculas de agua fuera de la esfera de coordinación, como se pudo comprobar con los resultados de difracción de rayos-X que se muestran a continuación.

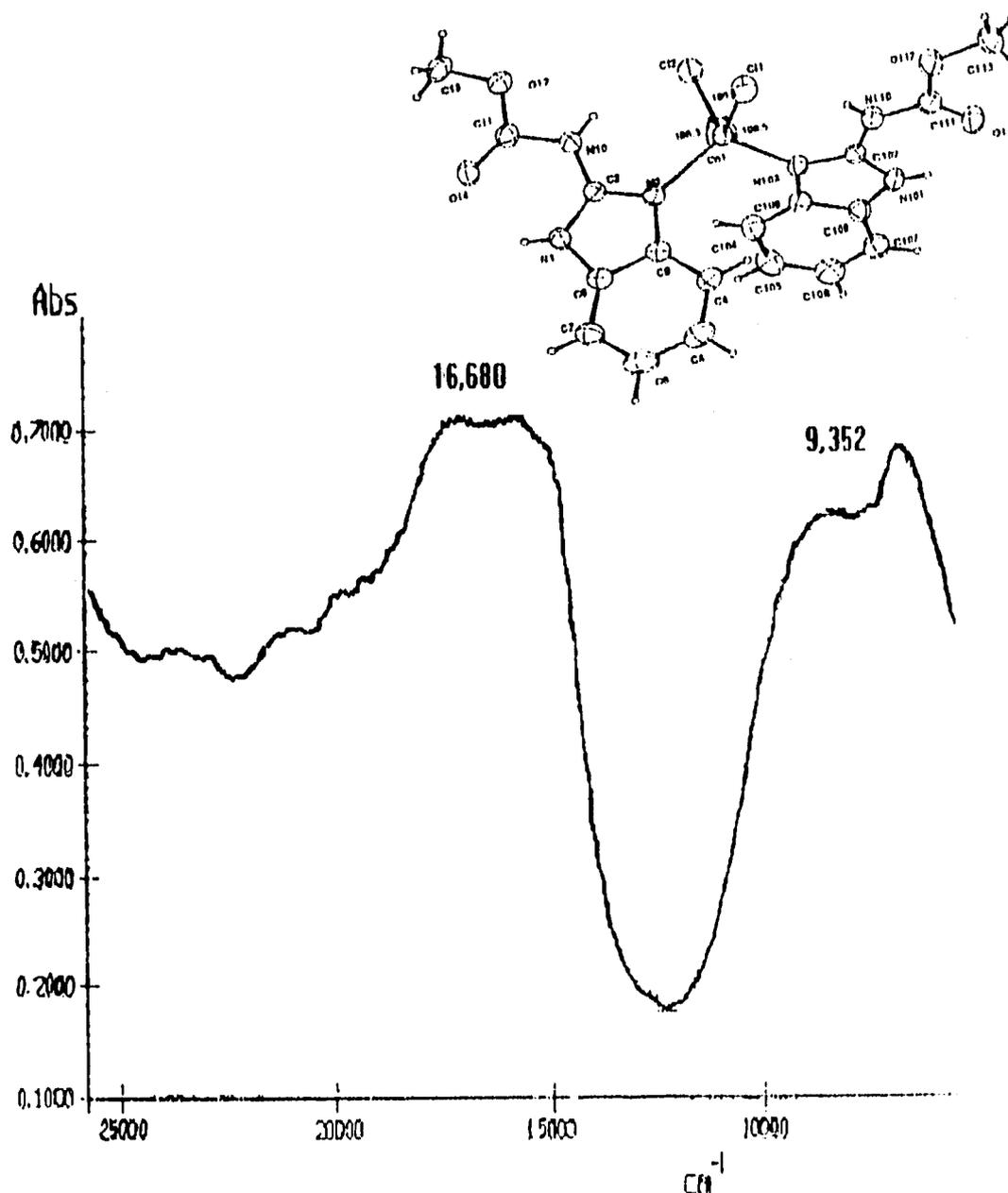


Figura 13. Espectro de reflectancia difusa del compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

## ESTUDIO POR DIFRACCIÓN DE RAYOS-X DEL CARBENDAZIM (MBC).

Con los cristales obtenidos, como se explicó en la metodología para la purificación del 2 metilbencimidazolcarbamato o Carbendazim, se llevó a cabo el estudio por difracción de rayos-X (figuras 14, 15 y 16). Analizando los datos se puede apreciar que por los ángulos y distancias que se muestran entre el N1 y su H correspondiente y la cercanía que tiene con el oxígeno del carboxilo (O12), existe un puente de hidrógeno (figura 14) que mantiene estable la molécula y favorece la coordinación en forma monodentada con el otro N3 imidazólico, favoreciendo la formación de compuestos monocoordinados con MBC. A continuación se muestran las distancias y los ángulos interatómicos:

Tabla 4 Distancias interatómicas (Å) del MBC

|             |           |             |           |             |            |
|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|------------|
| N(1)-C(2)   | 1.353 (6) | N(1)-C(8)   | 1.398 (7) | N(3)-C(2)   | 1.350 (5)  |
| C(2)-N(10)  | 1.338 (7) | N(3)-C(9)   | 1.379 (7) | C(4)-C(5)   | 1.377(8)   |
| C(4)-C(9)   | 1.378 (7) | C(5)-C(6)   | 1.401 (6) | C(7)-C(8)   | 1.370 (8)  |
| C(8)-C(9)   | 1.405 (5) | N(10)-C(11) | 1.349(5)  | C(11)-O(12) | 1.217 (5)  |
| C(11)-O(13) | 1.351 (7) | O(13)-C(14) | 1.427 (6) | O(14)-H(1)  | 2.2151 (5) |

Tabla 5 Ángulos interatómicos de enlace de MBC.

|                   |          |                   |          |
|-------------------|----------|-------------------|----------|
| C(2)-N(1)-C(8)    | 109.8(3) | N(1)-C(2)-N(3)    | 107.7(4) |
| N(1)-C(2)-N(10)   | 130.4(3) | N(3)-C(2)-N(10)   | 121.9(4) |
| C(2)-N(3)-C(9)    | 109.9(3) | C(5)-C(4)-C(9)    | 117.9(4) |
| C(4)-C(5)-C(6)    | 121.1(5) | C(5)-C(6)-C(7)    | 121.4(5) |
| C(6)-C(7)-C(8)    | 117.0(4) | N(1)-C(8)-C(7)    | 132.2(3) |
| N(1)-C(8)-C(9)    | 105.6(4) | C(7)-C(8)-C(9)    | 122.2(4) |
| N(3)-C(9)-C(4)    | 132.6(4) | N(3)-C(9)-C(8)    | 107.0(4) |
| C(4)-C(9)-C(8)    | 120.4(5) | C(2)-N(10)-C(11)  | 118.3(4) |
| N(10)-C(11)-O(12) | 129.7(5) | N(10)-C(11)-O(13) | 108.5(4) |
| O(12)-C(11)-O(13) | 121.8(4) | C(11)-O(13)-C(14) | 116.6(4) |

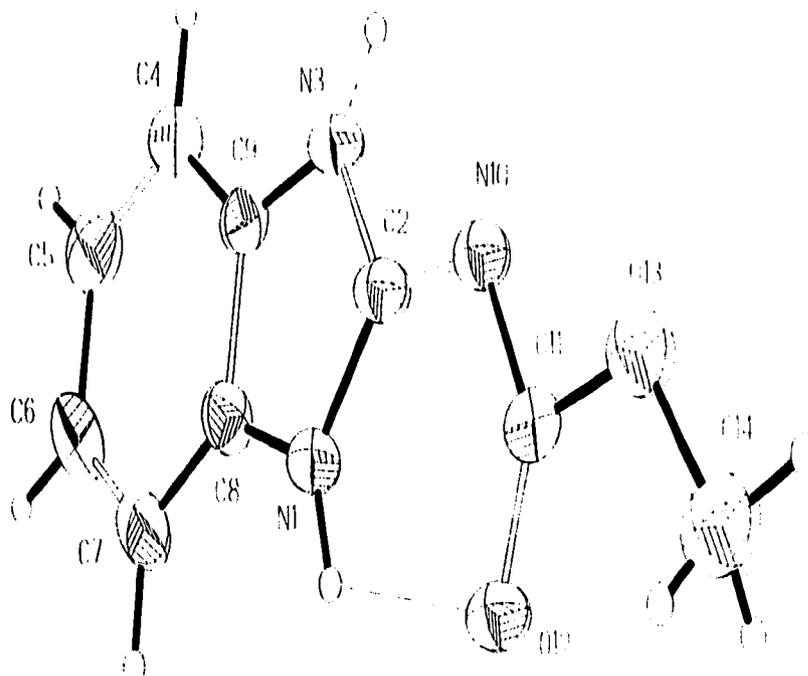


Figura 14. Estructura de MBC por difracción de rayos-X.

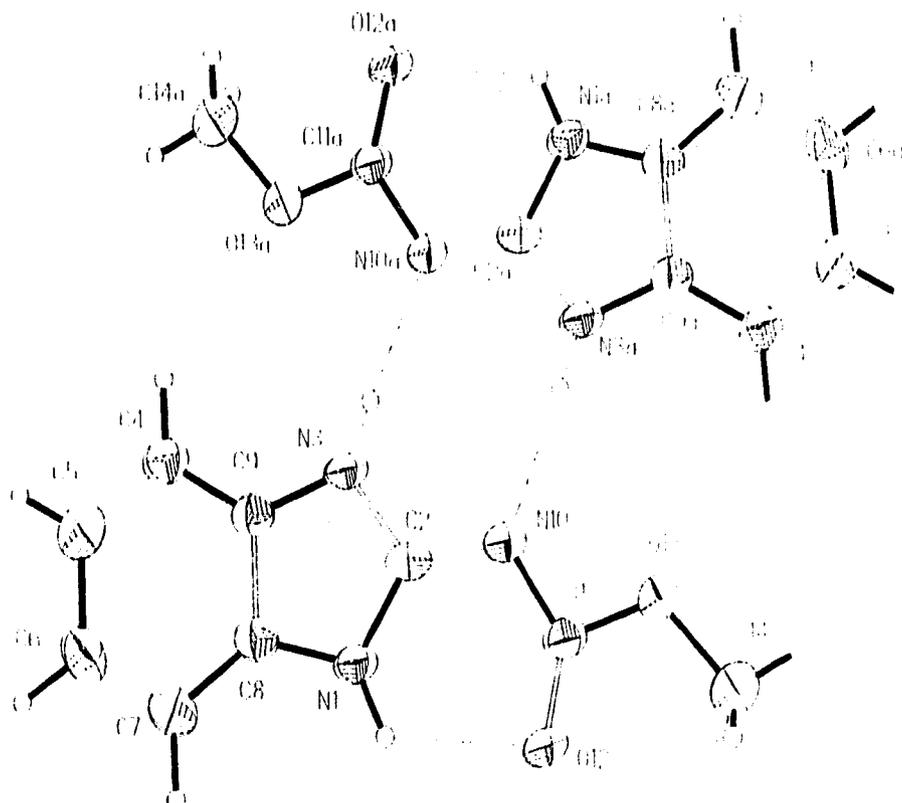


Figura 15. Muestra la interacción de los hidrógenos con N3-N10a y N10-N3a para formar la red cristalina del 2-Metilbenzimidazol carbamato (MBC).

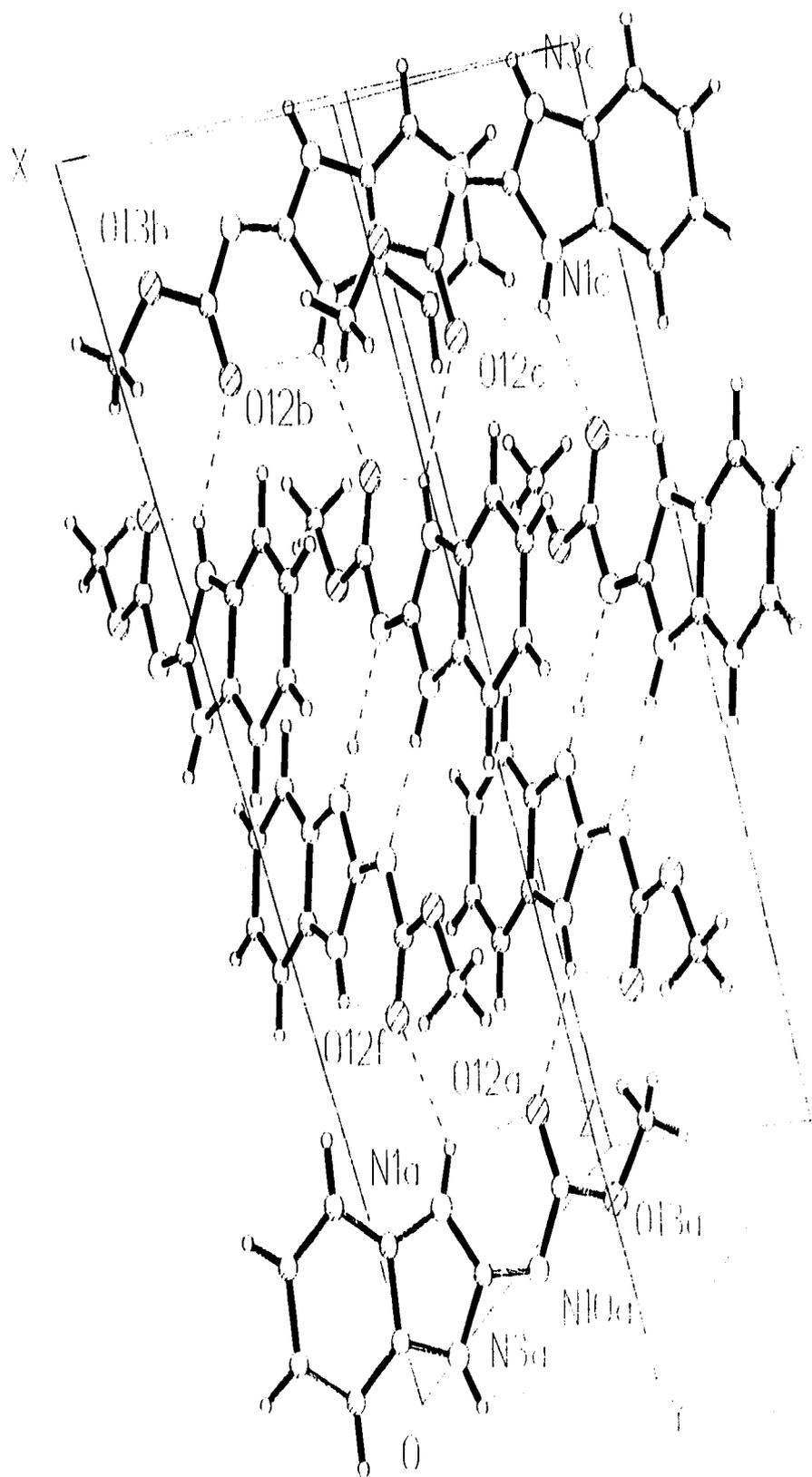


Figura 16. Red cristalina del 2-Metilbencimidazol carbamato (MBC).

## ESTRUCTURA DE RAYOS X DEL COMPUESTO $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Con los cristales obtenidos del compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , se llevó a cabo el estudio por difracción de rayos-X. Analizando los datos (tabla 6 y tabla 7) se puede apreciar que el cobalto se encuentra en un ambiente tetraédrico poco distorsionado, donde los dos ligantes se coordinan en forma monodentada por medio del nitrógeno imidazólico N3 al ion cobalto (II), completando la esfera de coordinación con dos iones cloro (C11 y C12), mostrando la estructura tetraédrica (figura 17) que concuerda con los análisis anteriores.

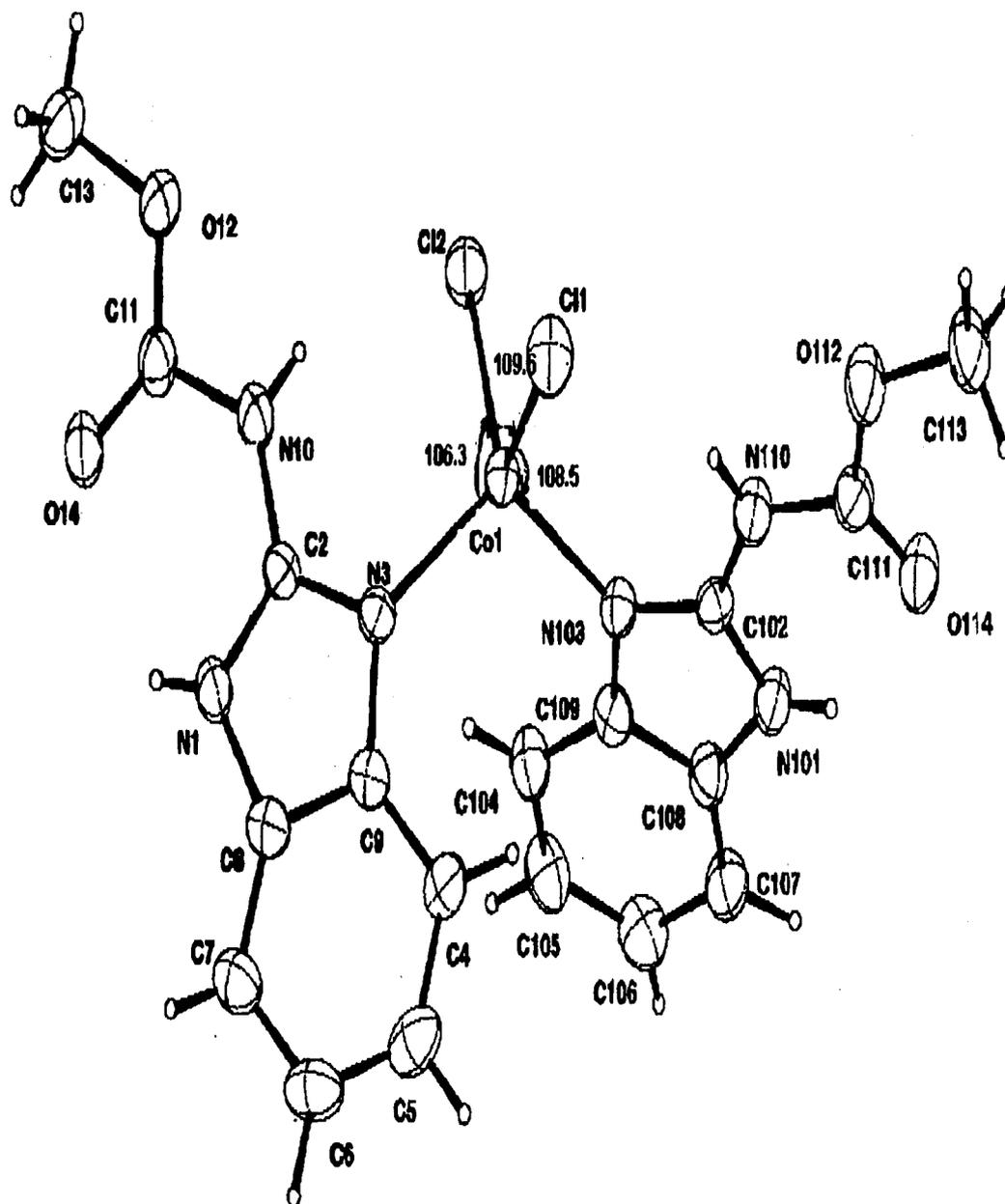


Figura 17. Estructura cristalina del compuesto tetraédrico  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Resulta interesante que, a diferencia de los compuestos de cobre y níquel donde se estabiliza la formación de un quelato con el oxígeno del grupo carbamato y el nitrógeno imidazólico, en este compuesto de cobalto únicamente interviene el nitrógeno, ya que el puente de hidrógeno entre el N1 y el O14 del carbamato estabiliza la estructura tetraédrica del compuesto.

Tabla 6. Distancias interatómicas (Å) del compuesto [Co(MBC)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O.

|               |          |               |          |               |           |
|---------------|----------|---------------|----------|---------------|-----------|
| Co(1)-Cl(1)   | 2.256(1) | Co(1)-Cl(2)   | 2.257(1) | Co(1)-N(1)    | 2.013(3)  |
| Co(1)-N(101)  | 2.008(3) | O(12)-C(11)   | 1.322(5) | O(12)-C(13)   | 1.449(5)  |
| O(14)-C(11)   | 1.189(5) | O(14)-H(1)    | 2.227(5) | O(114)-H(101) | 2.2153(5) |
| N(1)-C(2)     | 1.323(4) | N(1)-C(8)     | 1.338(5) | N(3)-C(2)     | 1.338(5)  |
| N(3)-C(9)     | 1.402(5) | N(10)-C(2)    | 1.363(5) | N(10)-C(11)   | 1.374(5)  |
| N(101)-C(102) | 1.319(4) | N(101)-C(108) | 1.409(5) | N(103)-C(102) | 1.338(5)  |
| N(103)-C(109) | 1.392(5) | N(110)-C(102) | 1.367(5) | N(110)-C(111) | 1.370(5)  |
| C(4)-C(5)     | 1.383(7) | C(4)-C(9)     | 1.370(6) | C(5)-C(6)     | 1.382(7)  |
| C(6)-C(7)     | 1.384(6) | C(7)-C(8)     | 1.386(5) | C(8)-C(9)     | 1.384(5)  |
| C(104)-C(105) | 1.372(6) | C(104)-C(108) | 1.380(5) | C(105)-C(106) | 1.384(6)  |
| C(106)-C(107) | 1.384(6) | C(107)-C(109) | 1.379(6) | C(108)-C(109) | 1.385(5)  |

Tabla 7. Ángulos interatómicos de enlace del compuesto [Co(MBC)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O.

|                    |           |                      |           |
|--------------------|-----------|----------------------|-----------|
| Cl(1)-Co(1)-Cl(2)  | 109.82(5) | Cl(1)-Co(1)-N(1)     | 112.60(9) |
| Cl(2)-Co(1)-N(1)   | 106.27(9) | Cl(1)-Co(1)-N(101)   | 107.91(9) |
| Cl(2)-Co(1)-N(101) | 108.45(9) | N(1)-Co(1)-N(101)    | 111.70(1) |
| C(11)-O(12)-C(13)  | 116.00(3) | C(111)-O(112)-C(113) | 115.30(3) |
| Co(1)-N(1)-C(2)    | 127.90(2) | Co(1)-N(1)-C(8)      | 127.30(2) |
| C(2)-N(1)-C(8)     | 104.70(3) | C(2)-N(3)-C(9)       | 112.60(3) |

Las distancias (tabla 6) O(114)-H(101)=2.2153 Å y la distancia O(14)-H(1)=2.2279 Å (tabla 4) son similares y corresponden a la distancia para puente de hidrógeno, por tal motivo el ligante únicamente forma enlace coordinado por medio del nitrógeno imidazólico, pero no se coordina por medio del oxígeno ya que el puente de hidrógeno estabiliza la estructura; esto corrobora lo que se propuso en la Hipótesis (1) como sitios probables de coordinación. En el caso del cobre y del níquel, el MBC se coordina en forma bidentada, tanto por el nitrógeno imidazólico como por el carboxilo del grupo carbamato.

El N(1) en el MBC presenta (figura 14) un puente de Hidrógeno con el O(12) y un ángulo de 109.8<sup>0</sup> en el anillo (C2-N1-C8) (tabla 5). En el compuesto [Co(MBC)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O se mantiene el puente de Hidrógeno ya que la distancia en el MBC (tabla 4) entre el O(14) y el H(1) es de 2.2151 Å y casi no varía en el compuesto que es de 2.2279 Å (tabla 6); los ángulos entre C2-N3-C9, tampoco varían significativamente.

La distancia (tabla 4) N(3)-C(2) es 1.350 Å en MBC, en el compuesto [Co(MBC)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O se reduce a 1.338 Å (tabla 6), en cambio se incrementa la distancia N(3)-C(9) de 1.379 Å (tabla 4) del MBC a 1.402 Å (tabla 6), en el mismo compuesto lo que indica que N(3)-C(2) tiene mas carácter de doble enlace en el compuesto [Co(MBC)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O.

## RESULTADOS Y DISCUSION.

### Caracterización biológica del MBC y sus compuestos de coordinación.

#### Efecto del Carbendazim (MBC) sobre las actividades fotosintéticas.

Se estudió el efecto del MBC en las actividades fotosintéticas, determinadas durante el flujo de electrones de  $H_2O \rightarrow M.V.$  en cloroplastos intactos de espinaca (*Spinacea oleracea*), lisados en el momento del ensayo. En la figura 18 se observa que el MBC inhibió la fotofosforilación (Sint. ATP) y esta inhibición aumentó conforme se incrementó su concentración de 0 hasta 200  $\mu M$ , mostrando 80 % de inhibición a 200  $\mu M$ .

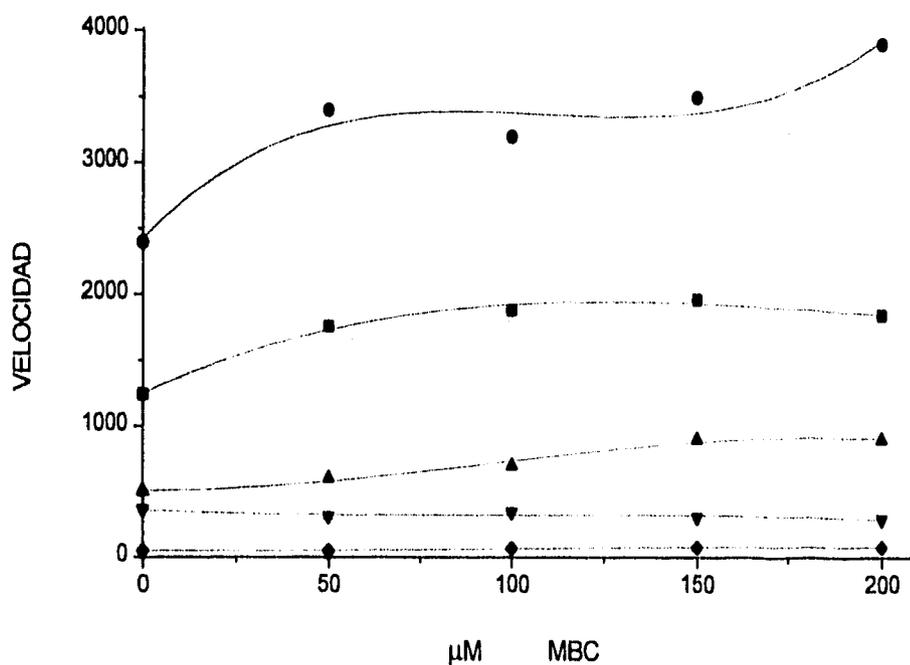


FIGURA 18. Efecto de la concentración de Carbendazim (MBC) en los diferentes procesos fotosintéticos. Los valores de la velocidad para los controles son: (◆) CAPTACIÓN DE PROTONES (49  $\mu eq$  de  $H^+$ /mg clo)(h), (▼) SINTESIS DE ATP. (360.5  $\mu Moles$  de  $H^+$ /mg clo)(h), (■) Te- BASAL (1240  $\mu eq$  de  $H^+$ /mg clo)(h), (▲) FOSFORILADO (500  $\mu eq$  de  $H^+$ /mg clo)(h) Y (●) DESACOPLADO (2400  $\mu eq$  de  $H^+$ /mg clo)(h).

Los compuestos que inhiben la fotofosforilación (Síntesis de ATP) lo hacen por mecanismos de: desacoplamiento (McCarty, 1977), inhibidor de la transducción de energía ó inhibidor de la reacción de Hill (Izawa, 1977). Para dilucidar el

mecanismo de acción del MBC se determinó su efecto en el transporte de electrones basal ( $Te^{-b}$ ), fosforilado ( $Te^{-f}$ ), y desacoplado ( $Te^{-d}$ ). Los resultados (figura 18), mostraron que las velocidades de  $Te^{-}$  basal, fosforilado y desacoplado se activaron, notándose que al aumentar la concentración hay un incremento en la actividad de la velocidad con MBC de 148 %, 180 % y 159% respectivamente a una concentración de 200  $\mu$ M para estas actividades (tabla 8), en relación con los controles (100% de actividad).

**Tabla 8. Efecto del MBC y sus compuestos de coordinación sobre los diferentes procesos de la fotosíntesis.**

| concentración                      | $Te^{-d}$<br>% de actividad<br>200 $\mu$ M | $Te^{-f}$<br>% de actividad<br>200 $\mu$ M | $Te^{-b}$<br>% de actividad<br>200 $\mu$ M | Sínt ATP<br>% de inhibición<br>200 $\mu$ M | Captación de P.<br>% de inhibición<br>200 $\mu$ M |
|------------------------------------|--|--|--|--|---|
| MBC                                | 159  | 180  | 148  | 20   | 157   |
| $[Co(MBC)_2Cl_2] \cdot 2H_2O$      | 98   | 180  | 81   | 100<br>(150 $\mu$ M)                       | % actividad<br>93<br>(10 $\mu$ M)                 |
| $[Cu(MBC)(CH_3COO)_2] \cdot 2H_2O$ | 158  | 180  | 350  | 38   | 80  |
| $[Ni(MBC)(CH_3COO)_2] \cdot 2H_2O$ | 117  | 180  | 150  | 4  | 150<br>% actividad                                |

Estos resultados del efecto del MBC sobre los diferentes procesos de la fotosíntesis, indican que se comporta como desacoplante no clásico, características similares a las reportadas para otros compuestos (Good, 1977; Hooper, 1984), ya que activaron el  $Te^{-}$  desacoplado, sin embargo, no inhiben la fotofosforilación drásticamente, mostrando 20% de inhibición a 200  $\mu$ M y la captación de protones no es afectada, a diferencia de los desacoplantes clásicos que no afectan el  $Te^{-}$  desacoplado, pero sí inhiben el  $Te^{-}$  fosforilado y la captación de protones, por lo que están de acuerdo con la teoría quimiosmótica de Mitchel (Neumann y Jagdendorf, 1964). Cabe aclarar que los desacoplantes que inducen activación del transporte de electrones desacoplado; promueven una mayor permeabilidad de la membrana del tilacoide al paso de  $H^+$  que destruyen el estado energizado de la membrana o por activación directa de una enzima redox de regulación (Neumann y Jagdendorf, 1964); tal como actuaron los compuestos (MBC,  $[Ni(MBC)(CH_3COO)_2] \cdot 2H_2O$  y  $[Cu(MBC)(CH_3COO)_2] \cdot 2H_2O$ ), con excepción del compuesto  $[Co(MBC)_2Cl_2] \cdot 2H_2O$ .

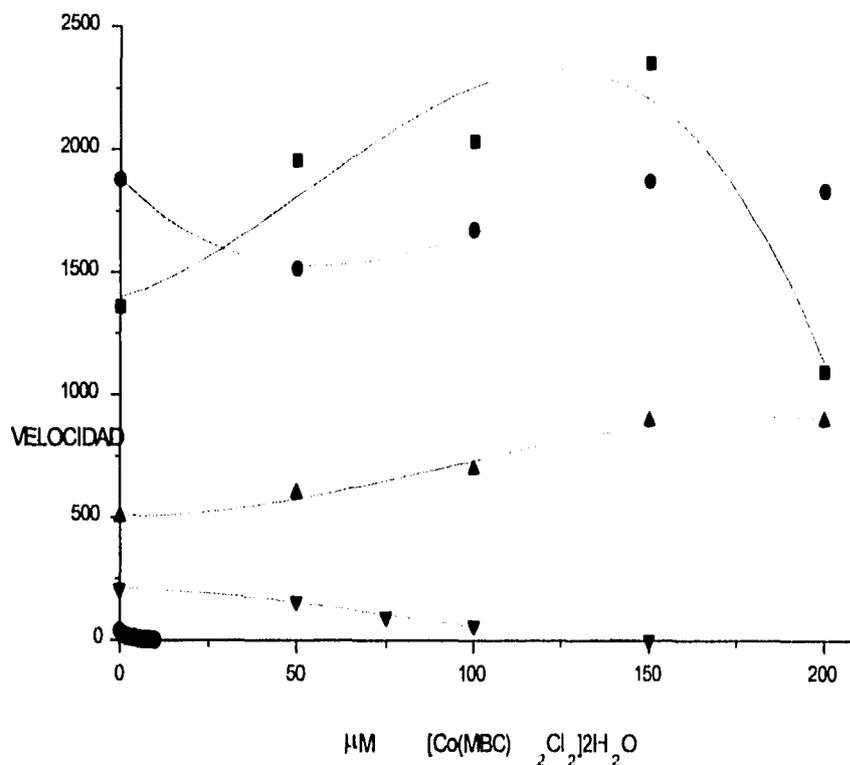


FIGURA 19. Efecto de la concentración de  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  en las diferentes actividades fotosintéticas. Con valores del control para: (◆) CAPTACIÓN DE PROTONES ( $40.2 \mu\text{eq de H}^+/\text{mg clo}(\text{h})$ ), (▼) SÍNTESIS DE ATP ( $208 \mu\text{Moles de H}^+/\text{mg chl}(\text{h})$ ), (■) Te- BASAL ( $1360 \mu\text{eq de H}^+/\text{mg clo}(\text{h})$ ), (▲) FOSFORILADO ( $500 \mu\text{eq de H}^+/\text{mg clo}(\text{h})$ ), Y (●) DESACOPLADO ( $1880 \mu\text{eq de H}^+/\text{mg clo}(\text{h})$ ).

#### Efecto de $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$ sobre las diferentes actividades de la fotosíntesis.

El compuesto de coordinación  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  muestra mayor actividad desacoplante con respecto a la del ligante (MBC), se aprecian magnitudes diferentes tal como se observa en la figura 19, comparada con la figura 18. El compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  inhibe la fotofosforilación y la captación de protones a concentraciones de  $150 \mu\text{M}$  y  $10 \mu\text{M}$  un 100% y 93% respectivamente (tabla 8), y la actividad del transporte de electrones basal y fosforilado fué activado al incrementar las concentraciones del compuesto; se requirieron mayores concentraciones del compuesto de cobalto para observar este efecto, comparada con la concentración requerida para captación de protones ( $10 \mu\text{M}$ ), por ejemplo, se observó para el Te<sup>-</sup> fosforilado un aumento de 180% de su actividad a  $200 \mu\text{M}$  y el basal incremento a 173% en su actividad a  $150 \mu\text{M}$  (tabla 8). Se observa en la figura 19 que el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  induce una disminución en el Te<sup>-</sup> desacoplado que corresponde a un 10% de inhibición a una concentración de  $50 \mu\text{M}$  y después se revierte.

Los resultados obtenidos indican que el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  actúa como inhibidor débil de la reacción de Hill simultánea a la de desacoplamiento, de manera similar a las reportadas para otros compuestos (Nicholls y Ferguson, 1982), por lo tanto, de acuerdo con las características descritas, se observa que este compuesto actúa como un desacoplante no clásico e inhibidor débil de la reacción de Hill.

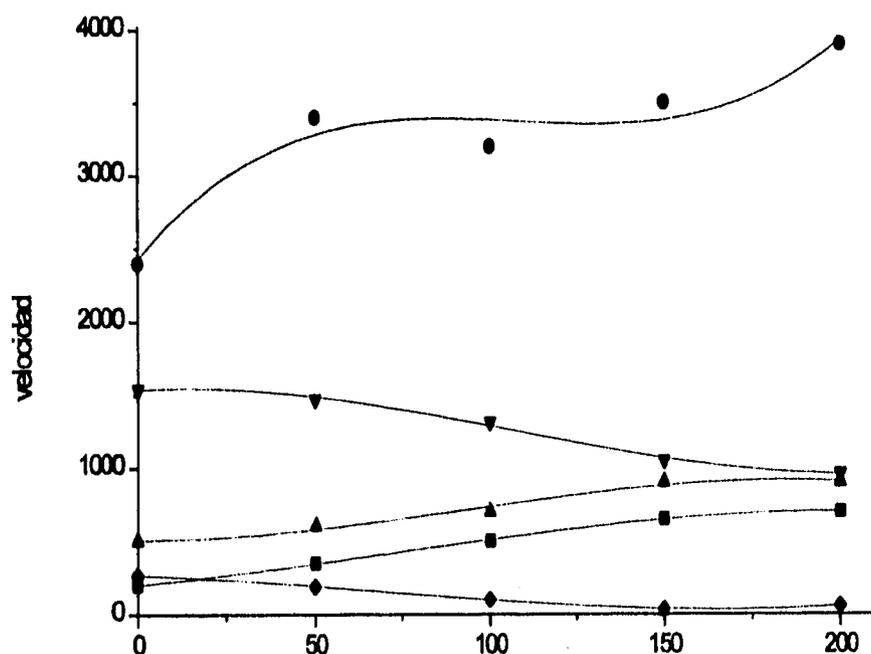


FIGURA 20. Efecto de la concentración de  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$  en las diferentes actividades fotosintéticas. Con valores del control para (◆) CAPTACIÓN DE PROTONES ( $268 \mu\text{eq de H}^+/\text{mg clo}(\text{h})$ ), (▼) SÍNTESIS DE ATP ( $1540 \mu\text{Moles de H}^+/\text{mg clo}(\text{h})$ ), (■) Te- BASAL ( $200 \mu\text{eq de H}^+/\text{mg clo}(\text{h})$ ), (▲) FOSFORILADO ( $500 \mu\text{eq de H}^+/\text{mg clo}(\text{h})$ ), Y (●) DESACOPLADO ( $2400 \mu\text{eq de }/\text{mg clo}(\text{h})$ ).

#### Efecto de $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$ sobre las diferentes actividades fotosintéticas.

En la fig 20 se ve que este compuesto presentó un efecto inhibitorio de 38% en la fotofosforilación y de un 80% de la captación de protones a  $200 \mu\text{M}$  para ambas actividades. En la misma figura 20, se observa el efecto de estos sobre los flujos de electrones basal, fosforilado y desacoplado, los resultados muestran una activación de 350%, 180 % y 158% respectivamente a  $200 \mu\text{M}$  (tabla 8). Estos resultados indicaron que se comportó como desacoplante no clásico, y de mayor potencia en su efecto desacoplante que el ligante (MBC) a la misma concentración ( $200 \mu\text{M}$ ).

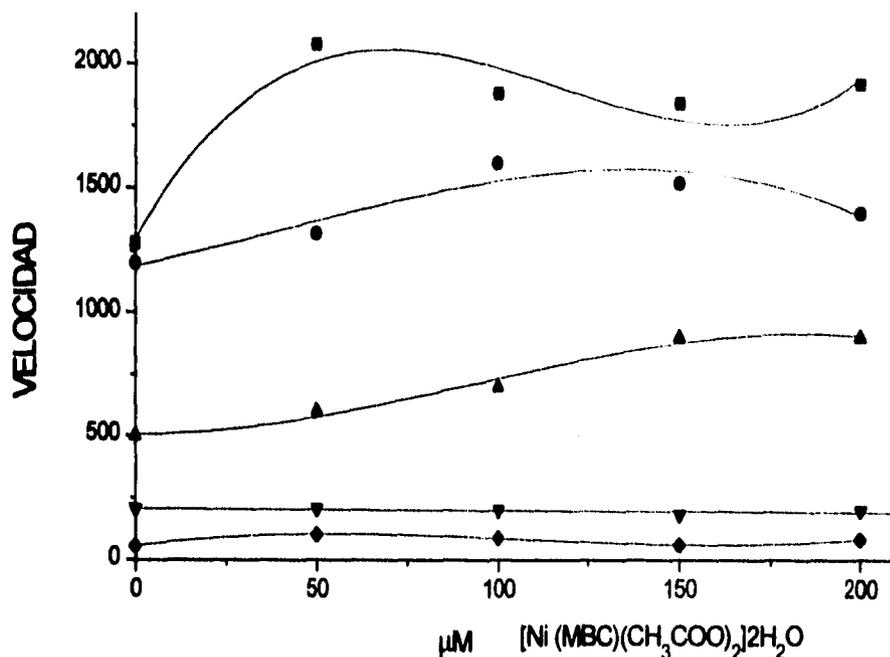


FIGURA 21 Efecto de la concentración de  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]_2\text{H}_2\text{O}$  en las diferentes actividades fotosintéticas. Con valores del control para: (◆)CAPTACIÓN DE PROTONES ( $56 \mu\text{eq de H}^+/\text{mg clo}(\text{h})$ ), (▼) SINTESIS DE ATP ( $205 \mu\text{Moles de H}^+/\text{mg clo}(\text{h})$ ), (■) Te- BASAL ( $1280$ ), (▲) FOSFORILADO ( $500$ ) Y (●)DESACOPLADO ( $1200 \mu\text{eq de } \bar{\text{e}}/\text{mg clo}(\text{h})$ ).

#### Efecto del $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]_2\text{H}_2\text{O}$ sobre las diferentes actividades de la fotosíntesis.

El compuesto de coordinación  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]_2\text{H}_2\text{O}$  muestra actividad desacoplante semejante a la del ligante (MBC), aunque de magnitudes diferentes tal como se observa en la figura 21. Los Te<sup>-</sup> basal, fosforilado y desacoplado de este compuesto son activados en 150%, 180%, y 117% a una concentración de  $200 \mu\text{M}$  (tabla 8), por otro lado este compuesto inhibe un 4% a  $200 \mu\text{M}$  la fotofosforilación, lo cual es muy leve y no dispuso el gradiente de protones portándose como desacoplante no clásico, ya que los desacoplantes clásicos actúan como protonóforos haciendo a la membrana del tilacoide permeable a protones, permitiendo así la disipación del  $\Delta\text{pH}$  (Avron y Shavit, 1965), en donde los protones se encuentran en ambas fases acuosas, separadas por una membrana; lo cual no ocurre con éste compuesto de coordinación  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]_2\text{H}_2\text{O}$ .

**Efecto del MBC y sus compuestos de coordinación en la actividad de Mg<sup>2+</sup>-ATPasa.**

Los desacoplantes como el NH<sub>4</sub>Cl y FCCP activan la velocidad de hidrólisis del ATP, para la Mg<sup>2+</sup>-ATPasa unida a membrana tilacoidal, por ello en este trabajo se determinó el efecto del MBC y sus compuestos de coordinación sobre la Mg<sup>2+</sup>-ATPasa, con el objeto de ver si se comportan como los desacoplantes clásicos.

**Tabla 9 . Efecto del MBC y sus compuestos de coordinación a 150 $\mu$ M y a 200 $\mu$ M sobre el % de actividad de la Mg<sup>2+</sup>-ATPasa.**

| % ACTIVIDAD SOBRE Mg <sup>2+</sup> -ATPasa                    |               |               |
|---|---------------|---------------|
| COMPUESTO   | [150 $\mu$ M] | [200 $\mu$ M] |
| MBC   | 113.5         | 30            |
| [Co(MBC) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]2H <sub>2</sub> O      | 185           | 83            |
| [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O]  | 218           | 400           |
| [Ni(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]2H <sub>2</sub> O | 127           | 97            |

**Las velocidades para los controles son:**

**del MBC:** 179.4 ( $\mu$ Moles de Pi)(h<sup>-1</sup>)(mg Clo<sup>-1</sup>),  
**[Co(MBC)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]2H<sub>2</sub>O:** 60.7 ( $\mu$ Moles de Pi)(h<sup>-1</sup>)(mg Clo<sup>-1</sup>),  
**[Cu(MBC)(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O]:** 124.14 ( $\mu$ Moles de Pi)(h<sup>-1</sup>)(mg Clo<sup>-1</sup>),  
**[Ni(MBC)(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>]2H<sub>2</sub>O:** 115.33 ( $\mu$ Moles de Pi)(h<sup>-1</sup>)(mg Clo<sup>-1</sup>),

donde 0 % de inhibicion= 100 % de actividad, en relación al control.

Los resultados encontrados se muestran en la tabla 9, donde se observa que a 150  $\mu$ M tanto el MBC como sus compuestos de coordinación activan a la Mg<sup>2+</sup>ATPasa, de manera similar como lo hacen el NH<sub>4</sub>Cl y FCCP, tal como se aprecia en esta tabla el MBC y los compuestos sintetizados presentan las siguientes características: el compuesto [Co(MBC)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]2H<sub>2</sub>O presenta una actividad de 185% a 150  $\mu$ M, el compuesto [Ni(MBC)(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>]2H<sub>2</sub>O presenta 127% de actividad a una concentración de 150 $\mu$ M. En cambio, el compuesto [Cu(MBC)(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O] presenta una actividad de 218% a 150 $\mu$ M y una actividad de 400% a 200 $\mu$ M.

El MBC y sus compuestos de coordinación [Co(MBC)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]2H<sub>2</sub>O y [Ni(MBC)(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>]2H<sub>2</sub>O, inhiben la actividad de la Mg<sup>2+</sup>ATPasa a una concentración de 200  $\mu$ M (tabla 9), este efecto de los compuestos sobre la Mg<sup>2+</sup>-ATPasa contribuye a caracterizarlos como desacoplantes; con la luz se crea un estado energizado de la membrana del tilacoide de mayor energía, en forma de un gradiente electroquímico de protones, activando a la Mg<sup>2+</sup>-ATPasa, en estas condiciones la enzima puede hidrolizar ATP al adicionárselo en la obscuridad y crear un gradiente electroquímico de protones (Nicholls y Ferguson, 1982; Hiroshi, 1990), mismos que fueron disipados por la actividad desacoplante de estos compuestos de coordinación indicados en la tabla 9, comportándose como desacoplantes de

manera diferente de como actúan los inhibidores de la fotofosforilación en cloroplastos de espinaca (Lotina y Cols., 1995).

La inhibición de la  $Mg^{2+}$ ATPasa observada a estas concentraciones (150 y 200  $\mu M$ ) de desacoplante puede explicarse como la caída del  $\Delta\mu H^+$  abajo del nivel mínimo requerido para que la enzima retenga su conformación activa en la oscuridad, ya que esta actividad requiere un mínimo de energización de la membrana (Carmeli, 1969). Sin embargo, existe evidencia experimental para los desacoplantes que sugiere que la inhibición puede deberse a una interacción específica del compuesto con el sitio catalítico o el canal de protones de la enzima (Pick, 1988).

Se considera que la síntesis e hidrólisis de ATP son procesos inversos que pueden ocurrir por regulación, de acuerdo con las necesidades energéticas de las células; por lo tanto, para observar una de las dos reacciones, es necesario que la otra esté inhibida. Durante la activación con luz se genera un estado de alta energía que los desacoplantes disipan. Cuando el  $\Delta pH$  disminuye, el ATP puede hidrolizarse a través del proceso inverso a la fosforilación (Hiroshi, 1990). Con bajas concentraciones de desacoplante se inhibe parcialmente cualquier síntesis de ATP dependiente del  $\Delta pH$  y por lo tanto se estimula la actividad de  $Mg^{2+}$ ATPasa. Se ha encontrado además que una vez que la enzima está activada y en presencia de ATP, esta puede liberar protones para contribuir al  $\Delta pH$  generado durante la etapa de iluminación; así que concentraciones moderadas de desacoplante permitirán que el  $\Delta pH$  fuera el óptimo para la hidrólisis de ATP, y no así para la fotofosforilación (Carmeli, 1970), los compuestos aquí estudiados cumplen las observaciones que indican que actúan como desacoplantes.

### **Efecto del MBC y sus compuestos de coordinación en tratamientos de Post-emergencia en diferentes plántulas.**

De acuerdo a lo planteado en los objetivos de esta tesis, se realizaron estos ensayos de post-emergencia en condiciones ambientales utilizando los mismos tipos de plantas, cuyas semillas se usaron en los experimentos de germinación y de respiración, se dejaron crecer hasta que fueron plántulas y se aspersaron las hojas con soluciones acuosas de los compuestos durante 10 días, de acuerdo a la metodología descrita y reportada por Upadhyaya (1986), a continuación se presentan los siguientes resultados obtenidos:

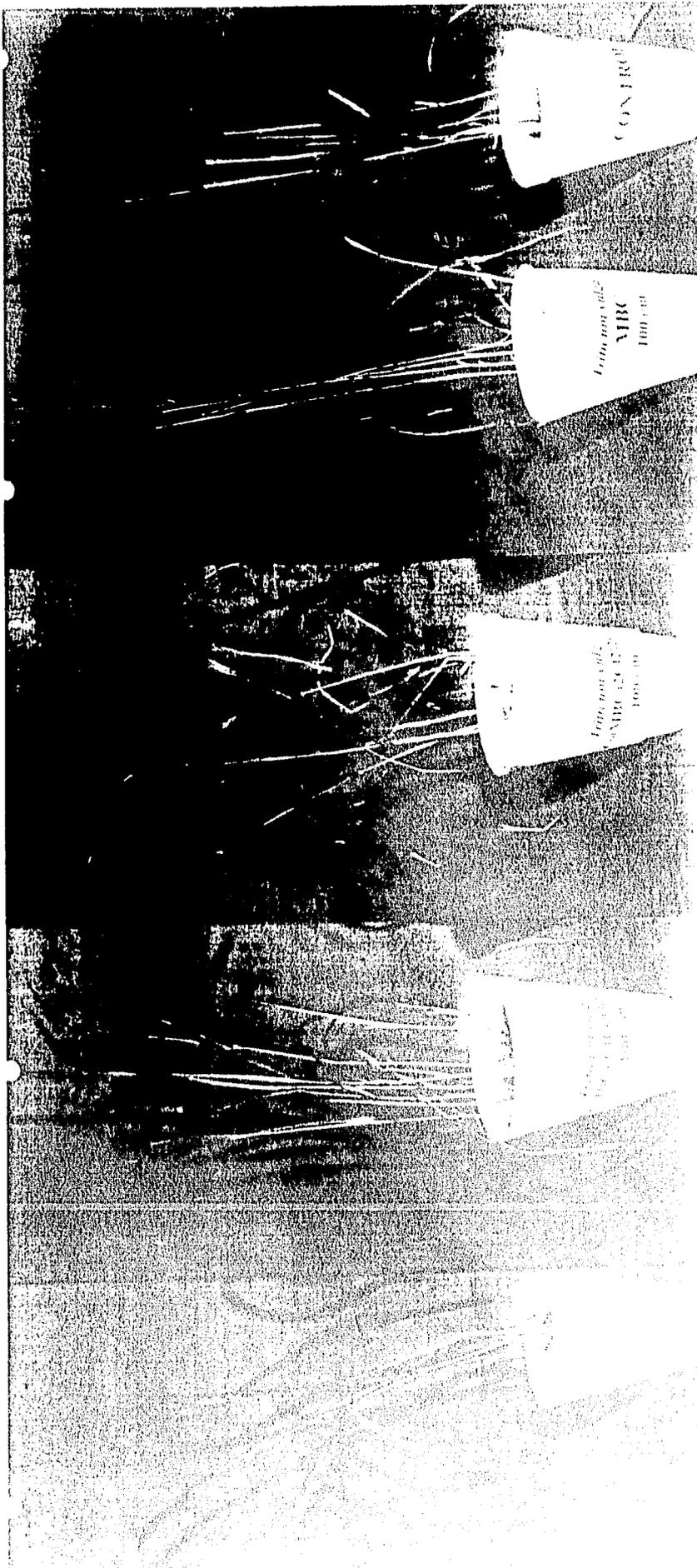
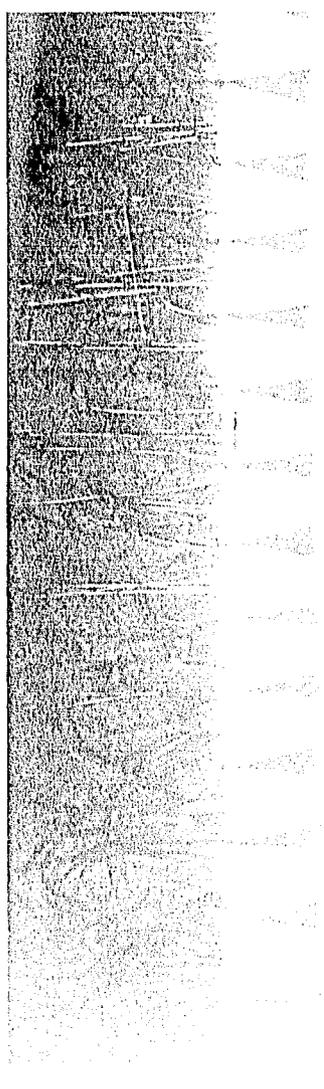


FIGURA 1. EFECTO SOBRE LA (FOTOSINTESIS) IN VIVO (EFECTO POST-EMERGENCIA) DEL CARBENDAZIM Y LOS COMPUESTOS  $[Ni(MBC)(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O]$  Y  $[Co(MBC)_2 \cdot CH_3 \cdot 2H_2O]$  EN PLANTULAS DE *Triticum vulgare*



### **Triticum vulgare:**

Se ensayó con plántulas de *Triticum vulgare* realizando experimentos en condiciones de post-emergencia trabajando con concentraciones de 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{M}$  de MBC y sus compuestos de coordinación. Los resultados encontrados se muestran en la figura 23, donde se muestra que no se observó ningún cambio en relación con el control, como se muestra en las fotografías tomadas a los 10 días de haber aspersado tanto el MBC como sus compuestos de coordinación sobre las plántulas de trigo ( figura 22). Con base en estas observaciones se puede decir que ni los compuestos ni el Carbendazim presentaron efecto post-emergente sobre ésta gramínea.

### **Physalis ixocarpa:**

El MBC a una concentración de 150  $\mu\text{M}$  aspersado (Malan, 1981), durante 10 días sobre las hojas de plántulas de *Physalis ixocarpa* presenta el fenómeno llamado clorosis que consiste en una decoloración de las hojas, en éste caso aparece en algunos puntos de las hojas de las plántulas donde se agregó el Carbendazim.

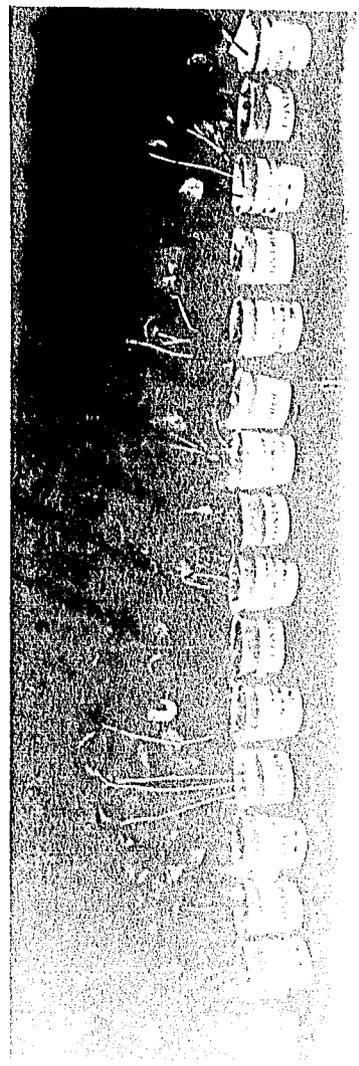
En las plántulas donde se aspersaron los compuestos de coordinación de MBC, se observó a los 10 días que a la misma concentración (150  $\mu\text{M}$ ), también se presenta clorosis pero mas pronunciada que en las plántulas donde se agregó el Carbendazim, como se muestra en las fotografías de las plántulas (figura 23), la clorosis inducida es mayor para el compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$  que en las plántulas donde se adicionaron los compuestos  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  y  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$ . Sin embargo al incrementar la concentración de éstos compuestos a 200  $\mu\text{M}$ , la clorosis se incrementa. Por lo tanto, el MBC y sus compuestos de coordinación presenta efecto clorótico sobre el tomate (gramínea de hoja ancha).

### **Salvia microphylla:**

Se sembraron varios tipos de semillas de diferentes malezas, pero las únicas que crecieron a nivel de plántulas fueron las de *Salvia microphylla* por lo tanto con ésta maleza se hicieron los ensayos de post-emergencia ( figuras 24a y 24b) en las mismas condiciones que los anteriores ensayos, observándose los siguientes resultados:



FIGURA 1. EFECTO DE LOS COMPUESTOS QUE SE MUESTRAN, SOBRE LA  
 (EUCALYPTUS) EN VIVO (EFECTO POST-EMERGENTE) EN PLANTULAS DE  
 20 DÍAS DE EDAD.



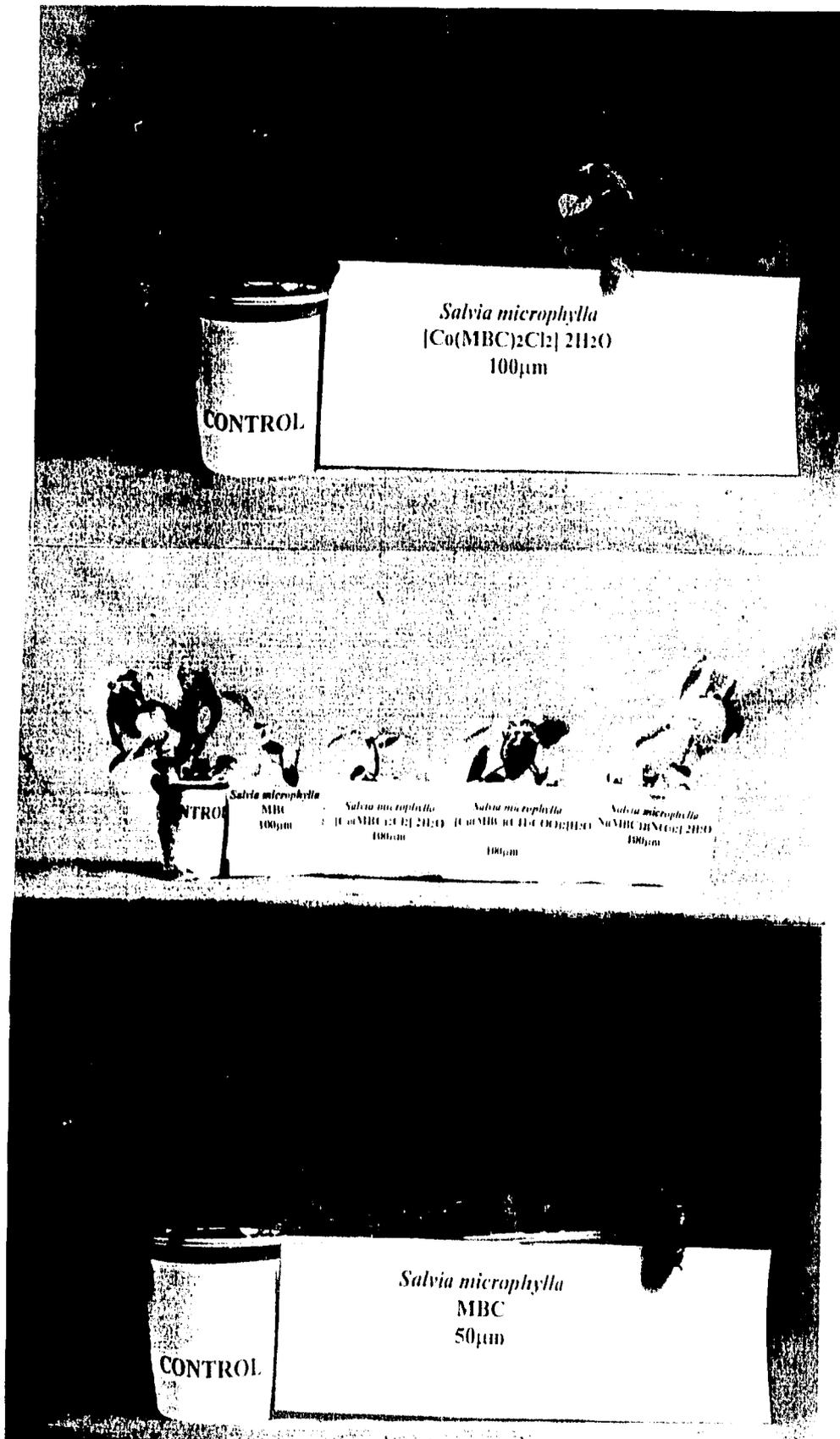


FIGURA 24<sub>b</sub> EFECTO DE LOS COMPUESTOS QUE SE MUESTRAN, SOBRE LA (FOTOSINTESIS)/*VIVO* (EFECTO POST-EMERGENTE) EN PLANTULAS DE *Salvia microphylla*

Todos los compuestos incluyendo al MBC muestran un fuerte efecto sobre el crecimiento de las plántulas de *Salvia microphylla* en concentraciones de 50 y 100  $\mu\text{M}$ , en relación a los experimentos control que se realizaron. El compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$  tiene un efecto notorio sobre el crecimiento de las plántulas en concentraciones de 50 y 100  $\mu\text{M}$ , en cambio el Carbendazim afecta más al crecimiento cuando se usa a 100  $\mu\text{M}$  (figuras 24a y 24b).

El compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  inhibe el crecimiento de las plántulas y además se aprecia de manera notoria el efecto clorótico sobre sus hojas. El más activo sobre ésta maleza resulta ser el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  que a partir de una concentración de 50  $\mu\text{M}$  afecta al crecimiento de la plántula y a 100  $\mu\text{M}$  es más notorio su efecto inhibitorio, en relación al control en las mismas condiciones (figuras 24a y 24b).

De lo anterior se puede decir que nuestros compuestos presentan un efecto selectivo post-emergente en las plantas usadas ya que no tienen efecto sobre plantas de hoja angosta como es en el caso del trigo (*Triticum vulgare*) y sí en las plantas de hoja ancha tanto de plantas de uso agrícola como el tomate verde (*Physalis ixocarpa*) donde produce clorosis y de malezas (*Salvia microphylla*), donde además de producir clorosis, afecta al crecimiento de las plántulas, de forma similar a lo reportado (Hathway, 1986).

Cabe mencionar que el transporte de electrones fotoinducidos, en presencia de éstos herbicidas producen clorosis. La reconstrucción cronológica de los cambios que ocurren en plantas intactas del efecto de herbicidas en la composición de pigmentos de cloroplastos aislados se ha seguido. La destrucción secuencial de los pigmentos encontrados para algunos herbicidas sigue este orden:  $\beta$ -carotenos, clorofila a, xantofilas y finalmente clorofila b (Moreland, 1980), estas observaciones probablemente sean similares a las producidas por el MBC y sus compuestos de coordinación en plantas de hoja ancha, el cual requiere ser investigado.

La degradación de pigmentos es considerada como resultado de la fitotoxicidad inducida por la inhabilidad de la clorofila para disipar la energía de excitación absorbida cuando el transporte de electrones es inhibido (Moreland, 1980).

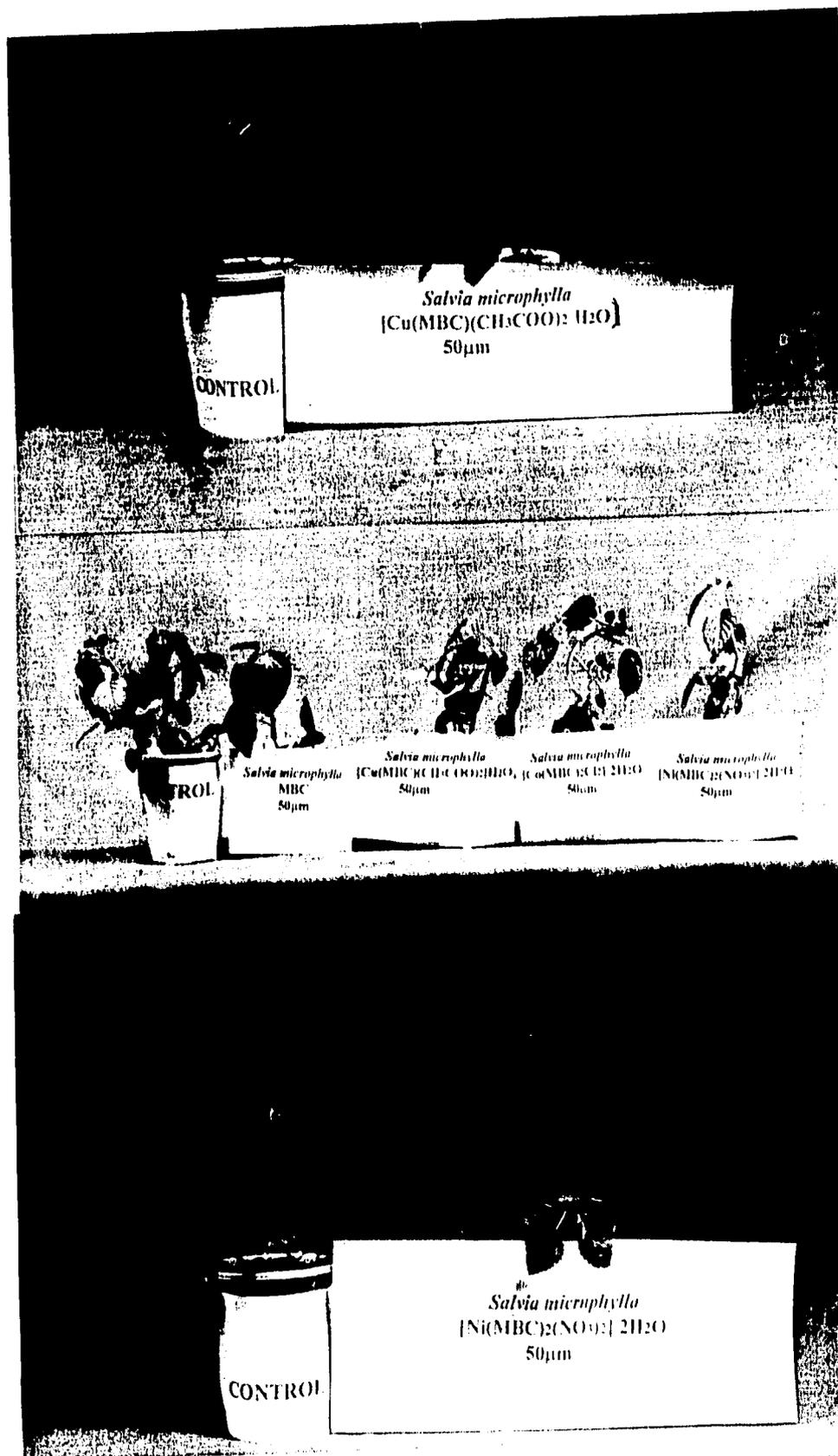


FIGURA 24a EFECTO DE LOS COMPUESTOS QUE SE MUESTRAN, SOBRE LA (FOTOSINTESIS) *IN VIVO* (EFECTO POST-EMERGENTE) EN PLANTULAS DE *Salvia microphylla*

## **Efecto del MBC y de sus compuestos de coordinación en la respiración de diferentes semillas.**

### **Triticum vulgare**

Los resultados del efecto del ligante (MBC) y sus compuestos de coordinación ensayados en semillas de *Triticum vulgare* sobre la respiración a 28°C, se muestran en la figura 26, se observa que el MBC acelera la velocidad de respiración de las semillas de *Triticum vulgare* a 150 µM a partir de las 48 y a las 72 hrs. de exposición sugiriendo que actúa como desacoplante, en cambio a 200 µM a las 48 hrs. se inhibe 24% ya que mostró una actividad del 76%, polarográficamente medido con el electrodo de Clark conectado al oxímetro. El compuesto [Cu(MBC)(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O] no tiene un efecto significativo sobre la respiración del trigo a 200 µM, ya que presenta un 100% de actividad de respiración a las 24 hrs. para luego disminuir al 80% la velocidad de la respiración a las 72 hrs. de exposición, es decir que se presenta un 20% de inhibición de la respiración, en relación con el experimento control.

El compuesto [Co(MBC)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O no presenta ningún efecto a las 24 y 48 hrs., pero a las 72 hrs. de exposición mostró una actividad desacoplante, ya que acelera la respiración hasta un 133% a una concentración de 150 µM; estos resultados sugieren que el compuesto no se transforma fácilmente para llegar al sitio de afectación en la mitocondria (Standell, 1985).

En la misma figura 26, se observa que, a la misma concentración el compuesto [Ni(MBC)(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O inhibe 34% de las 24 a las 72 hrs., en cambio, a las 48hrs. la activa hasta 183% a 150 µM, los resultados obtenidos indican que actúa como desacoplante a las 48 hrs. Estos datos indican que el compuesto se metaboliza en función de tiempo.

El MBC a las 24 hrs. presenta un efecto inhibitorio suave de la respiración de las semillas de *Triticum vulgare* a una concentración de 200 µM, probablemente el MBC tenga dificultades de transporte para llegar al sitio de ataque o es biotransformado y posteriormente se manifiesta su actividad desacoplante que es de las 48 a las 72 hrs (figura 26).

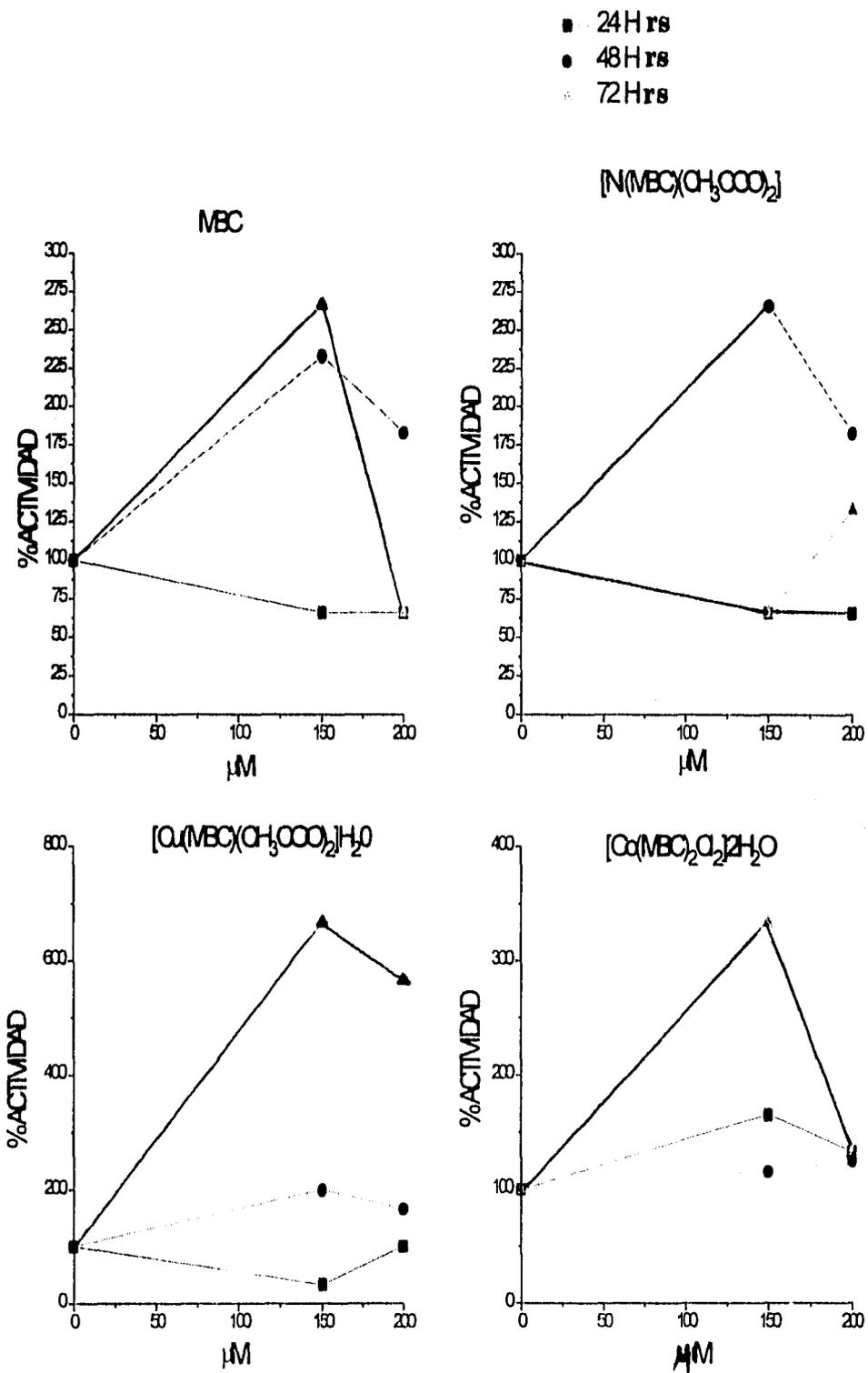


Figura 26. Efecto de las concentraciones de los compuestos en la actividad de respiración de las semillas de *Triticum vulgare* durante 24, 48 y 72 horas a 28 °C.

Los resultados comparativos (figura 27) de la respiración de semillas de *Triticum vulgare*, con los diferentes compuestos (MBC),  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  (Ni),  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  (Cu)  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  (Co) ensayados en concentraciones 0, 150 y 200  $\mu\text{M}$ , durante los diferentes días ( I, II y III); indican que son contados los eventos donde se inhibe el proceso de respiración de semillas de trigo, comparado con el control (100% de actividad), en cambio se aprecia como se incrementa la actividad de respiración de estas semillas, para el MBC y sus complejos cuando el % de actividad es mayor que los controles (100% de actividad), en concentración 0  $\mu\text{M}$ .

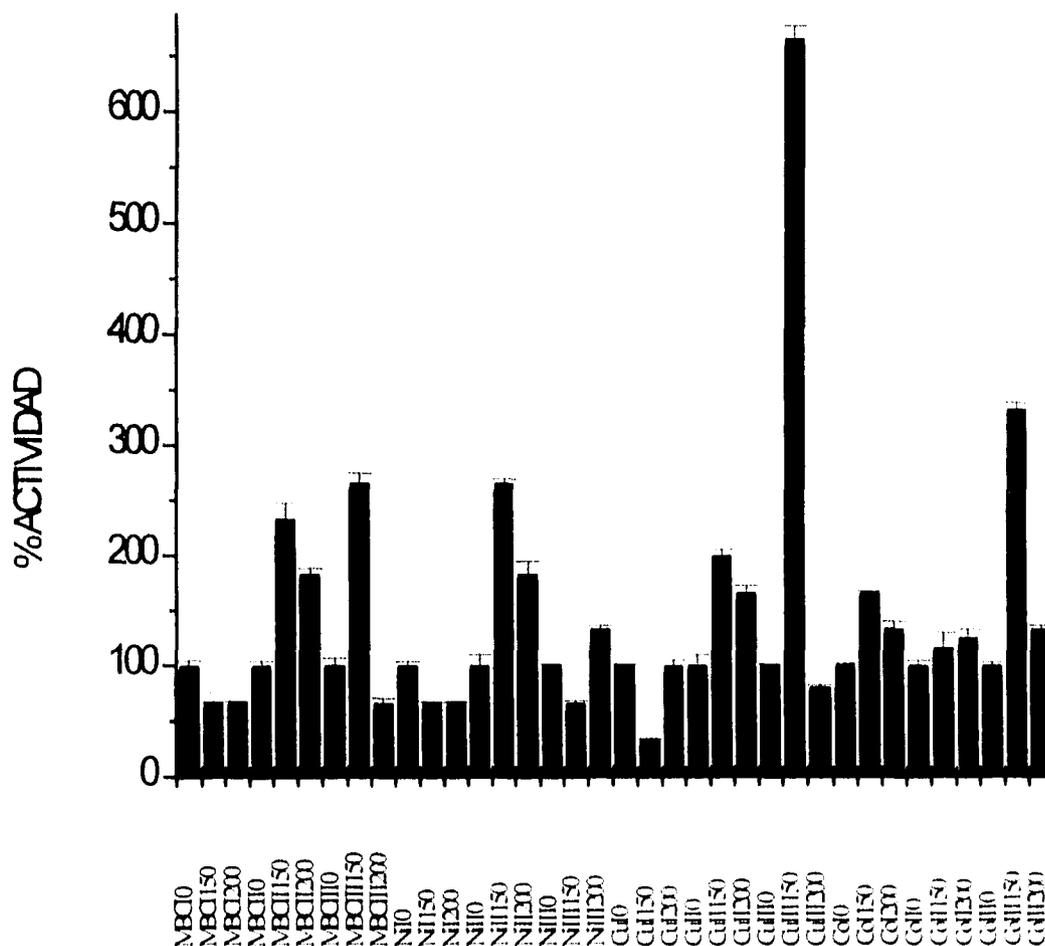


Figura 27. Porcentaje de actividad de los diferentes compuestos, usando concentraciones 0, 150 Y 200  $\mu\text{M}$ , durante I, II Y III días de exposición a 28 °C, sobre la respiración de semillas de *Triticum vulgare*. Incluye desviación estándar.

### ***Physalis ixocarpa***

En semillas de ***Physalis ixocarpa*** a 28 °C (figura 28), se observa que el MBC acelera la respiración de las semillas a bajas concentraciones durante 24 a 96 hrs. de ensayo, en cambio arriba de 150 µM, empieza a inhibir la respiración de estas semillas, a las 96 hrs de exposición, presenta un 40% de inhibición en esas condiciones. Se propone que actúa como desacoplante de la fosforilación oxidativa, de acuerdo a lo que reportan Moore y Rich, 1980.

En cambio el compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  presenta una actividad desacoplante a las 24 y 48 hrs. a bajas concentraciones, aunque a las 72 hrs. y a las 96 hrs. inhibió la respiración a la misma concentración, ejemplo, a 50 µM inhibe la respiración un 50%. A concentraciones entre 100 y 200 µM se manifiestan otros efectos.

A la misma concentración, se observa que el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  activa la respiración a 50 µM, indicando una actividad desacoplante de la respiración ya que se incrementa a 120% y a 180% a las 24 Hrs. y a las 48 Hrs. respectivamente; nótese que a las 72 hrs. este compuesto inhibe la respiración 50%, con respecto al control. Los resultados de respiración sobre ***Physalis ixocarpa***, indican que el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  es el más activo de los compuestos ensayados en este trabajo.

El compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$  no afecta la respiración de semillas de ***Physalis ixocarpa*** a las 24 hrs. de exposición en todas las concentraciones ensayadas, en cambio a las 48 y 96 hrs. su potencia en acelerar la respiración aumenta, haciéndolo el más potente a las 96 hrs. a 150 µM, pero a las 72 hrs. la inhibe hasta 50 % a 50 µM, revirtiéndose a concentraciones mayores (figura 28).., estos datos indican que el compuesto es biotransformado en función del tiempo de exposición.

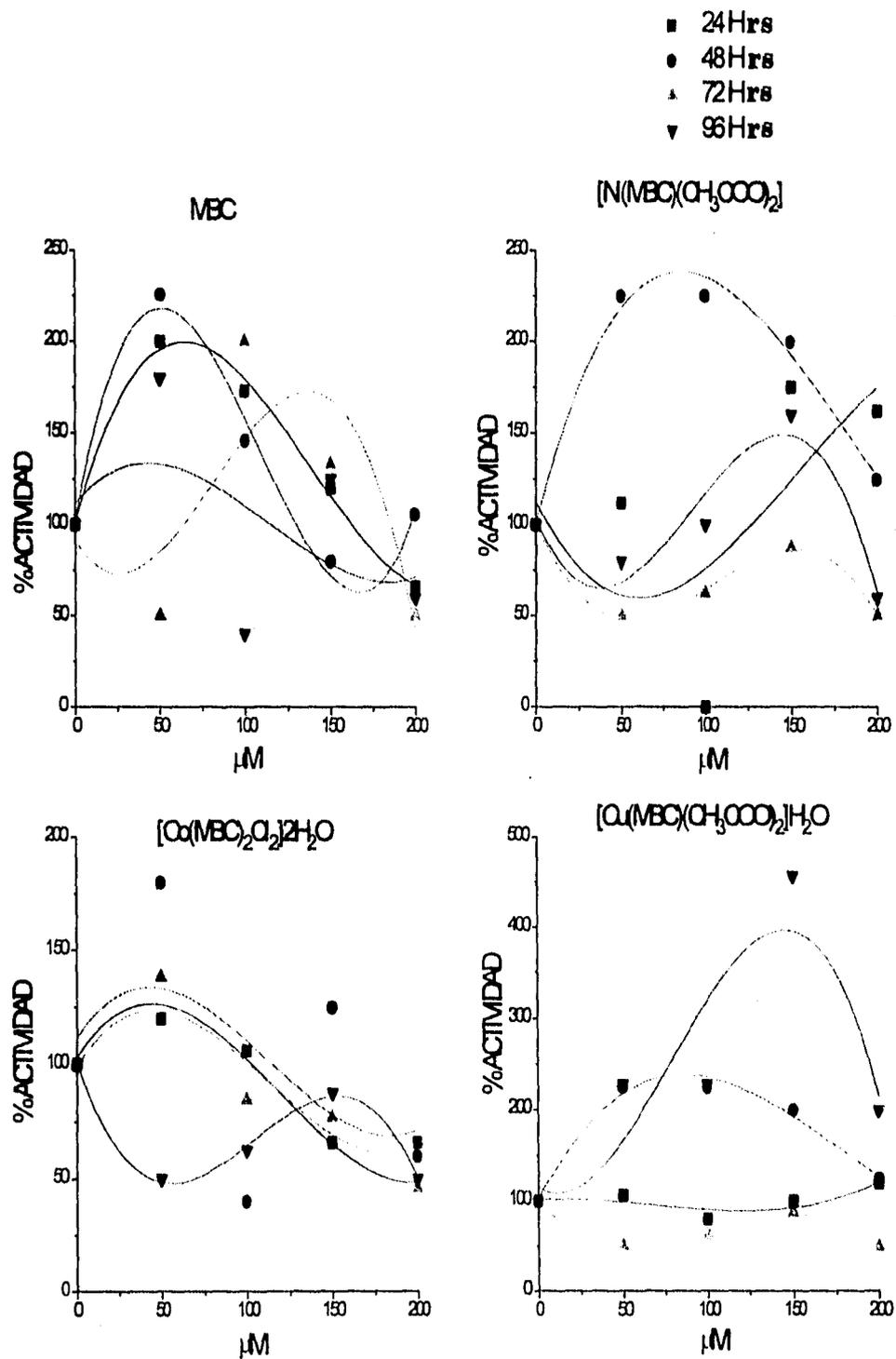


Figura 28. Efecto de las concentraciones de los compuestos en la actividad de respiración de las semillas de *Physalis ixocarpa* durante 24, 48, 72 y 96 horas a 28<sup>o</sup> C.

Los resultados comparativos de los diferentes compuestos (MBC),  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Ni),  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Cu) y  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Co) ensayados en concentraciones 0, 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{M}$ , durante los diferentes días (I, II, III y IV) a 28 °C (figura 29); indican el efecto desacoplante de todos los compuestos en el proceso de respiración de las 300 semillas de tomate, ya que en algunos casos se activa mas del 200% y en otros casos se inhibe en relación a los controles (concentración 0 $\mu\text{M}$  de cada compuesto y 100% de actividad).

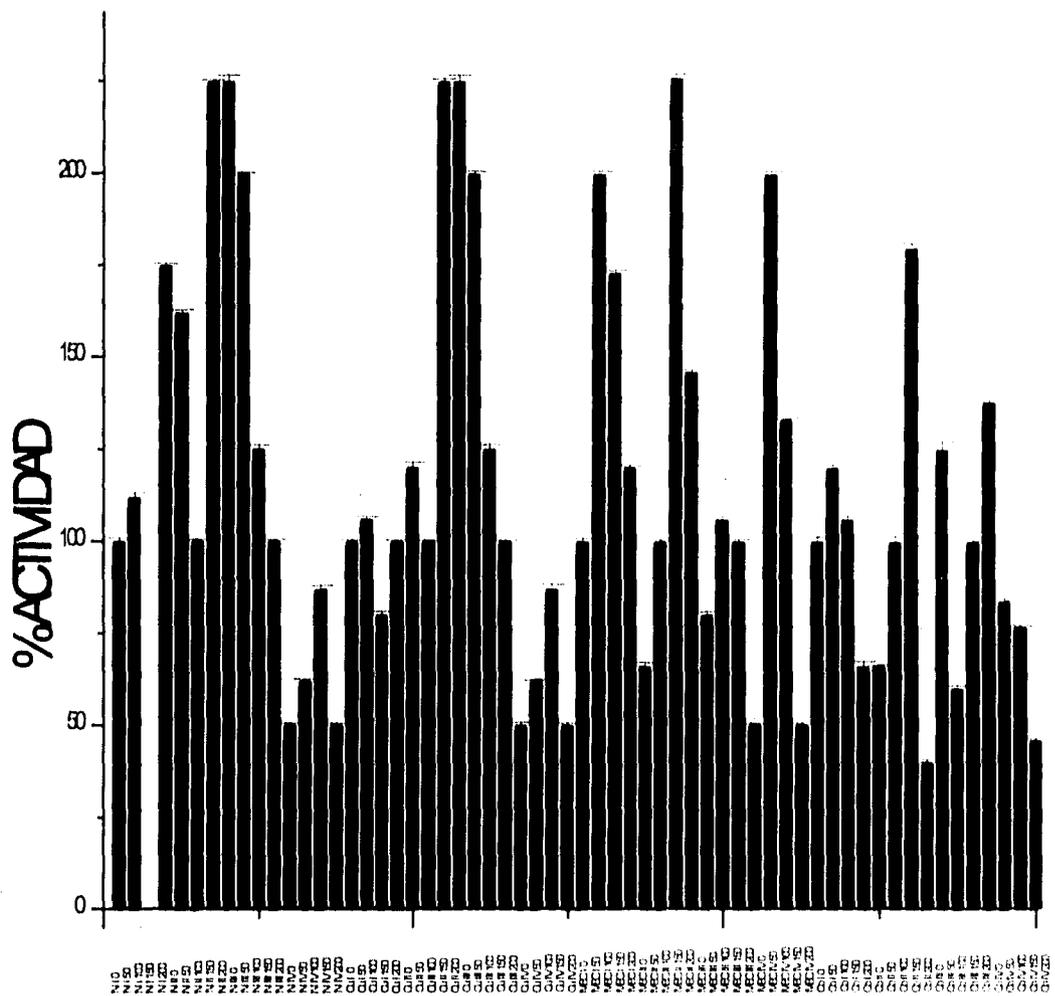


Figura 29. Porcentaje de actividad de los diferentes compuestos, usando concentraciones 0, 50, 100, 150 Y 200  $\mu\text{M}$ , durante I, II Y III días de exposición a 28 °C sobre la respiración de semillas de *Physalis ixocarpa*. Incluye desviación estándar

### **Sorghum halepense**

Se observa que el MBC inhibe la respiración de las 50 semillas de **Sorghum halepense** a las 24 hrs. un 90% a 150  $\mu\text{M}$  a 28  $^{\circ}\text{C}$  (figura 30), en cambio a las 48 y 72 hrs., la activa a una concentración de 100  $\mu\text{M}$ , siendo mayor el efecto a 50  $\mu\text{M}$ , lo que indica que actúa como inhibidor de la respiración a las 24 hrs. y después se metaboliza y el producto actúa como desacoplante, posteriormente se biotransforma ya que la potencia desacoplante disminuye. En la misma figura 31 se observa que el compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$ , inhibe la respiración de un 25% a un 50% a una concentración de 0 a 100  $\mu\text{M}$ , a concentración de 200  $\mu\text{M}$  presenta una inhibición de la actividad respiratoria del 90% a las 48 hrs. de exposición y a las 72 hrs. su inhibición de la respiración de las semillas es del 39%. Notándose una recuperación del efecto inhibitorio de éste compuesto, lo que sugiere que también es biotransformado (Standell, 1985).

Por otro lado el compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  a 200 $\mu\text{M}$  (figura 31) muestra a las 48 hrs una inhibición del 54% y a las 72 hrs. de un 19% de inhibición, observándose que la potencia del efecto inicial de este compuesto sobre la respiración de estas semillas disminuye, es probable que el compuesto se empiece a metabolizar. Nótese que el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  es el más activo ya que a la misma concentración de 200 $\mu\text{M}$  muestra a las 72 hrs. un 86.4 % de inhibición, a las 24 y 48 hrs., presenta un efecto inhibitorio marginal.

Para la demostración del sitio de inhibición en la cadena respiratoria se recomienda ensayar su efecto en mitocondrias aisladas.

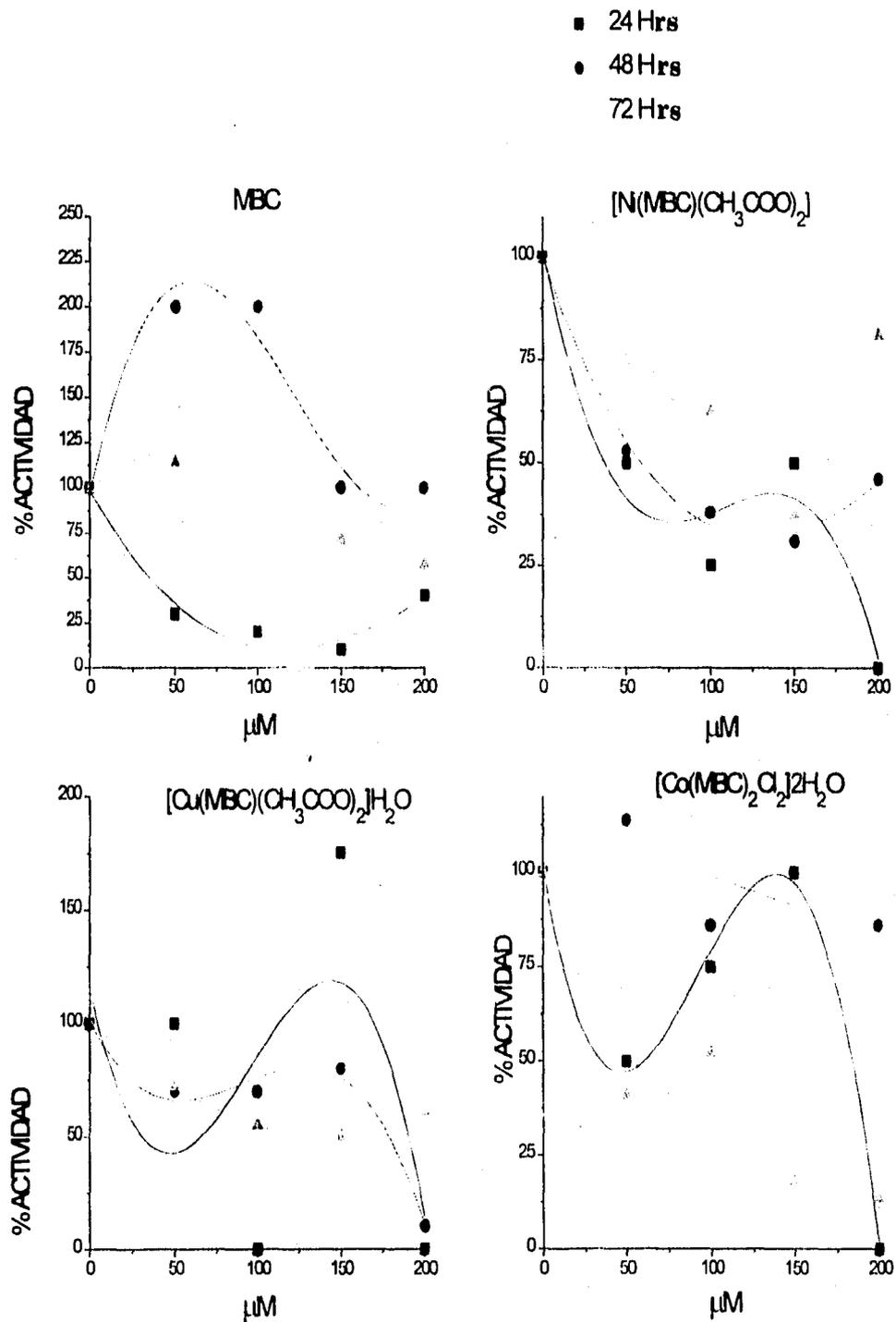


Figura 30. Efecto de las concentraciones de los compuestos en la actividad de respiración de las semillas de *Shorgum halepense*, durante 24, 48 Y 72 horas a 28°C.

Los resultados comparativos de los diferentes compuestos (MBC),  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  (Ni),  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  (Cu) y  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  (Co) ensayados en concentraciones 0, 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{M}$ , durante los diferentes días ( I, II y III), a 28 °C (figura 31); indican que cuando se utilizan concentraciones de MBC de 50 y 100  $\mu\text{M}$ , la actividad en el proceso de respiración de 50 semillas de *Shorgum halepense* se duplica ( 200%), en relación con los controles (100% de actividad con 0  $\mu\text{M}$  de concentración de cada compuesto). En todos los otros casos, el proceso de respiración de las semillas de esta maleza, se inhibe con los diferentes compuestos, lo que se observa con las barras menores al 100% de actividad de los controles a 0  $\mu\text{M}$ .

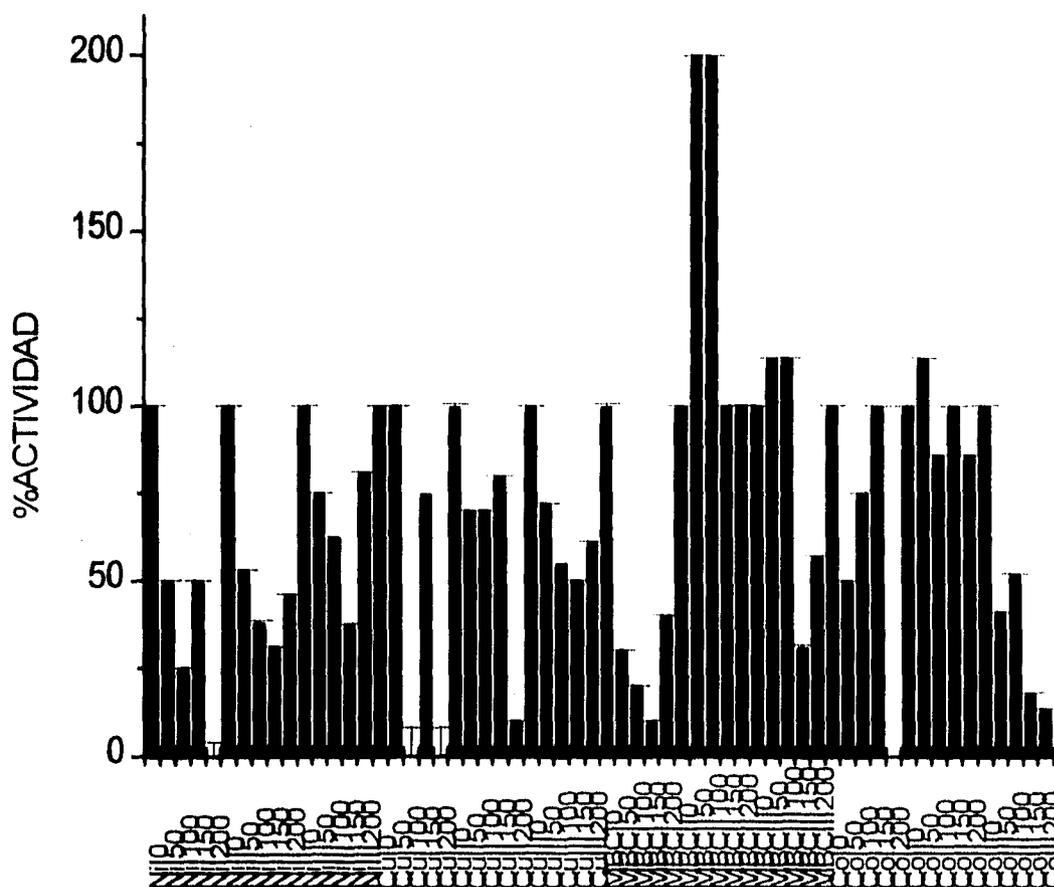


Figura 31. Porcentaje de actividad de los diferentes compuestos, usando concentraciones 0, 50, 100, 150 Y 200  $\mu\text{M}$ , durante I, II Y III días de exposición a 28 °C. sobre la respiración de semillas de *Shorgum halepense*. Incluye desviación estándar.

**Cassia obtusifolia :**

Los compuestos sintetizados presentan un efecto, ya sea inhibitorio o desacoplante mas drástico en las malezas; ya que en éste caso, después de las 24 hrs. de exposición a 28 °C, como se aprecia en los resultados. El MBC presenta una inhibición del 100% de la respiración de 20 semillas de *Cassia* a 200 µM (figura 32). , pero es mucho mas activo el compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  ya que alcanza el mismo 100% de inhibición a una concentración menor (50 µM), acelerándola paulatinamente a concentraciones mayores, lo que indica que presenta dos efectos sobre la respiración de estas semillas, uno inhibitorio a bajas concentraciones (50µM) y otro desacoplante de la fosforilación oxidativa a concentraciones mayores (200 µM).

El compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  en cambio, acelera la respiración un 500% a 100 µM y a 200 µM la acelera a un 200% de actividad de la respiración, indicando que actua como un desacoplante potente (figura 32).

El compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  resulta ser junto con el  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  los que mas inhiben la respiración de ésta maleza, el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  inhibe un 50% a 100 µM, y a 200 µM inhibe un 75% como se muestra en las gráficas de la figura 32 a las 24 Hrs. a 28 °C.

Los resultados comparativos de los diferentes compuestos (MBC),  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  (Ni),  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  (Cu) y  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  (Co) ensayados en concentraciones 0, 50, 100, 150 y 200 µM (figura 33), indican los casos en que se inhibe la respiración totalmente (0% de actividad) en las determinaciones realizadas, especialmente con el ligante MBC. También se observan eventos en los cuales se incrementa la actividad en el proceso de respiración de semillas de *Cassia obtusifolia*, cuando el porcentaje de actividad es mayor del 100%, lo que ocurre con las diferentes concentraciones que se muestran (figura 33).

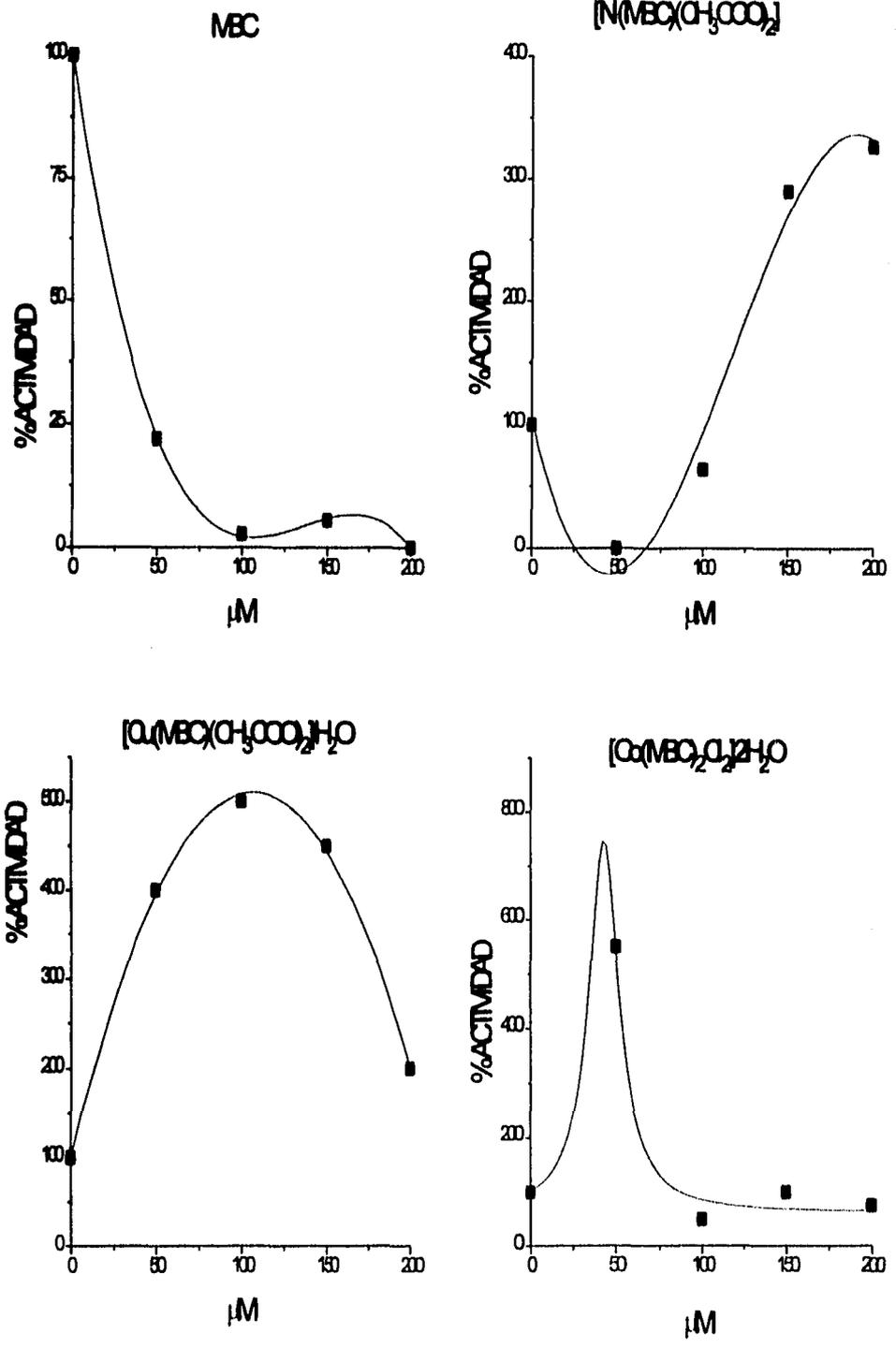


Figura 32. Efecto de las concentraciones de los compuestos en la actividad de respiración de las semillas de *Cassia obtusifolia*, durante 24 horas a 28°C.

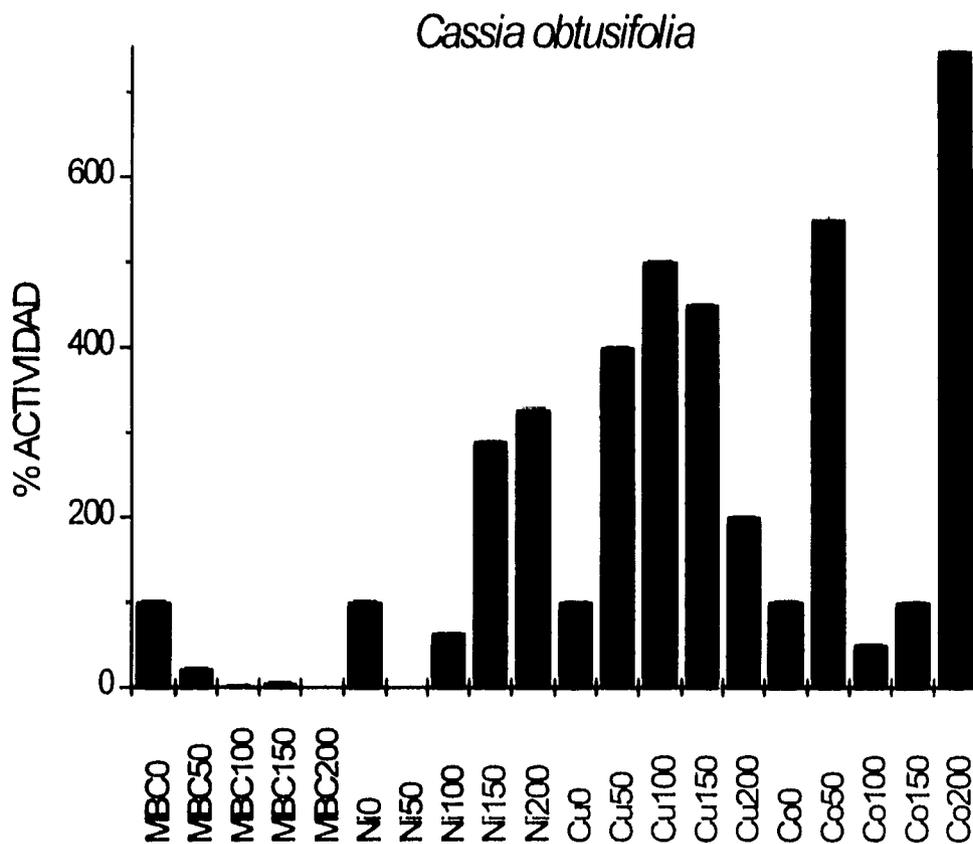


Figura 33. Porcentaje de actividad de los diferentes compuestos, usando concentraciones 0, 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{M}$ , a 28  $^{\circ}\text{C}$ , sobre la respiración de semillas de *D*: *Cassia obtusifolia* durante 24 hrs. Incluye desviación estándar.

Estos resultados obtenidos muestran que el MBC y sus compuestos de coordinación afectan la respiración de las semillas ya sea inhibiéndola o acelerándola, con el objeto de dilucidar su mecanismo de acción se requiere ensayar los compuestos en mitocondrias aisladas para complementar su caracterización como desacoplantes en la cadena respiratoria o como inhibidores de la misma.

La cadena respiratoria (o "cadena transportadora de electrones") es una sucesión lineal de transportadores de electrones dividida en tres regiones en las que la energía libre que proviene de la oxidación de sustratos del ciclo de Krebs, puede ser utilizada para la síntesis de ATP (Nicholls y Ferguson, 1982).

El acoplamiento entre la respiración y la síntesis de ATP puede romperse con ciertos agentes llamados "desacoplantes" que suprimen el control respiratorio, es decir, estimulan la respiración en ausencia de síntesis de ATP y producen la rápida hidrólisis de ATP (Nicholls y Ferguson, 1982).

Lo anterior se describe ya que algunos de los compuestos ensayados presentaron un aceleramiento de la respiración en comparación del control y posiblemente se comporten como desacoplante en la cadena respiratoria al igual que en la fotosintética como se vio previamente.

En el caso en que la respiración fué inhibida después de transcurrido cierto período de tiempo se puede decir que los compuestos usados actúan como inhibidores del transporte de electrones, o bien como inhibidores de la transferencia de energía a nivel mitocondrial. Por eso para confirmarlo es necesario realizar experimentos en mitocondrias aisladas de plantas.

En aquellos casos en que se observa una recuperación de la actividad respiratoria por parte de las semillas después de un tiempo transcurrido se puede sugerir que los sistemas enzimáticos de las semillas metabolizan los compuestos y se transforman en compuestos que manifiestan otra actividad para el desarrollo de la planta.

**Efecto de MBC y sus compuestos de coordinación en la germinación de plantas agrícolas y malezas.**

Se probaron el MBC y sus compuestos de coordinación en la germinación de diferentes tipos de semillas (cuyo número está en la tabla 1), donde se observa (figura 34) lo siguiente:

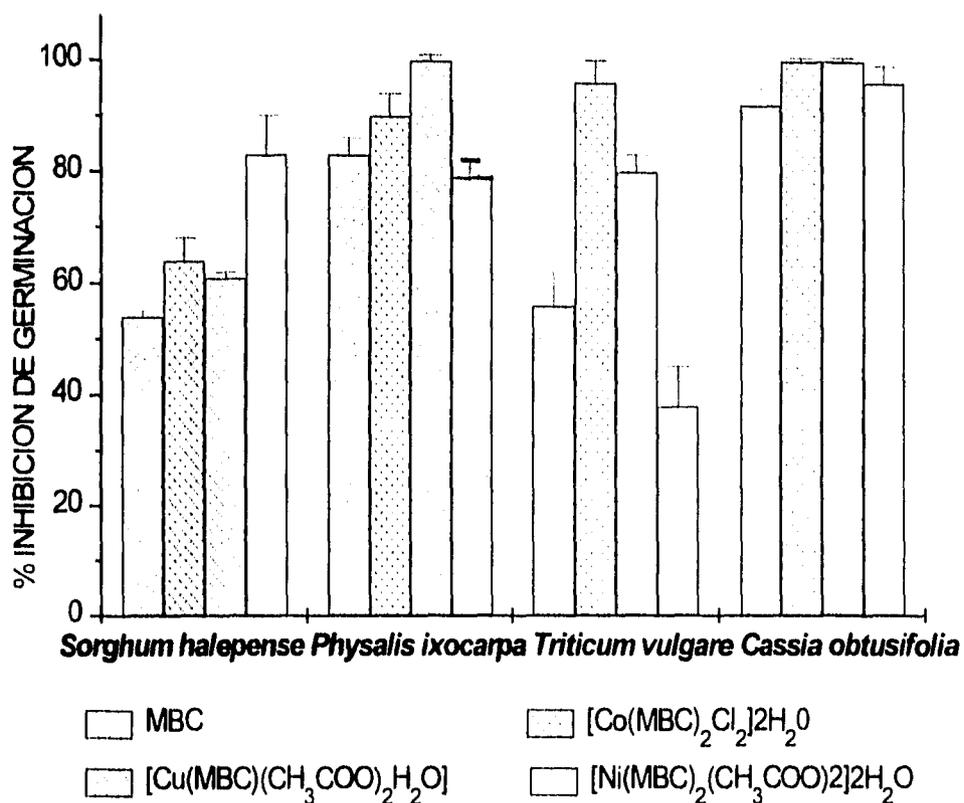


Figura 34. Efecto del MBC y sus compuestos de coordinación en la inhibición de la germinación de semillas de plantas de uso agrícola (*Triticum vulgare* (20 semillas) y *Physalis ixocarpa* (100 semillas) y malezas (*Sorghum halepense* (100 semillas) y *Cassia obtusifolia* (20 semillas) a una concentración de 150  $\mu$ M, con un tiempo de exposición de 96 hrs., todo lo cual se realizó a 28 ° C, se incluye desviación estándar. Condiciones específicas se describen en material y métodos, corresponde al control 0% de inhibición de la germinación a una concentración de 0  $\mu$ M.

### *Triticum vulgare*

El MBC presenta una inhibición de la germinación del 56% a 150  $\mu\text{M}$  durante las 96 horas de exposición (figura 34), y su efecto sobre el crecimiento radicular es afectado respecto al control, a 28 ° C (figura 35).

El compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  inhibe 96% la germinación de semillas de trigo a 150  $\mu\text{M}$  a los 4 días de exposición (figura 35), y se mantiene constante con 96% de inhibición a una mayor concentración de 200  $\mu\text{M}$  en las condiciones descritas en material y métodos (figura 35), este resultado indica que el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  es más potente como inhibidor de la germinación de semillas de trigo que el MBC.

El compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  resulta ser el menos activo, ya que a una concentración de 150  $\mu\text{M}$  presentó una inhibición del 38%, en relación con el control, (figura 35).

El compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$ , presenta una inhibición de 80% en la germinación de semillas de trigo cuando se usa a una concentración de 150  $\mu\text{M}$  en iguales condiciones (figura 35).

Los resultados encontrados indican que el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  es el mas potente en la inhibición de la germinación, lo cual resalta que algunos compuestos de coordinación son mas potentes para inhibir la germinación que el ligante MBC (Dodge, 1987).

### **Physalis ixocarpa**

El MBC inhibe A 28 ° C, la germinación un 83% cuando se agrega a 150  $\mu$ M, (figura 34), al inhibir el crecimiento radicular; en relación con el control, como se muestra en la figura 36 .

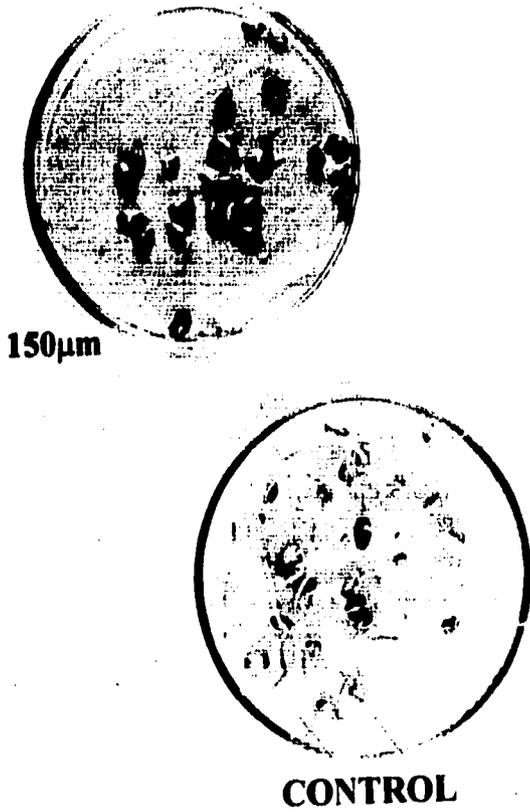
El compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  presenta un 90% de inhibición de la germinación de estas semillas, en las mismas condiciones; se observa que la parte mas afectada es en el crecimiento radicular. El mas activo en ésta determinación resultó ser el compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  con un 100% de inhibición de la germinación, observando que el crecimiento radicular se inhibe totalmente a 150  $\mu$ M con un tiempo de exposición de 96 hrs (figura 36), de manera diferente de como se comportan otros compuesto reportados (Perez-García y Cols., 1995), donde se variò la temperatura y el tiempo de almacenamiento.

El compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  presenta 80% de inhibición de la germinación, siendo una diferencia del 3% con el MBC (83% de inhibición), pero tomando en cuenta las desviaciones estándar de ambos, se puede decir que tienen un comportamiento parecido, aunque de los cuatro compuestos usados tiene la tendencia a ser el inhibidor mas débil.

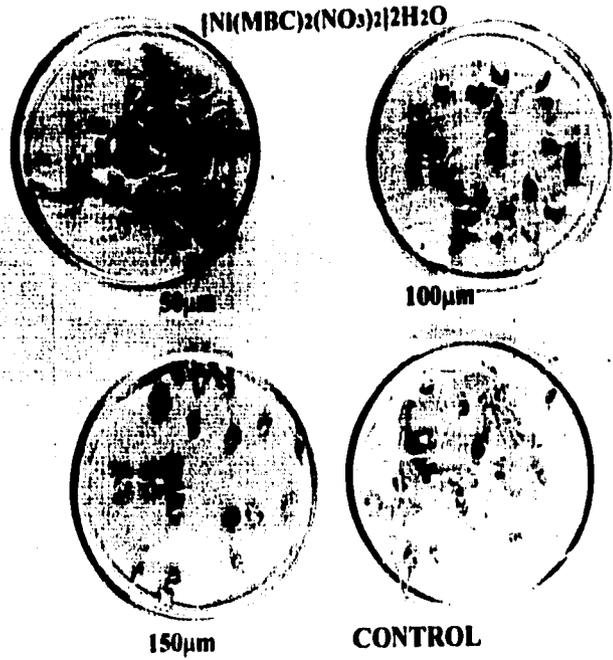
De lo anterior se puede decir que el ligante MBC modifica su actividad cuando está como compuesto de coordinación, ya que se potencia como en el caso del compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  o bién existe la tendencia a aumentar como con el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  y como en el caso del compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  la tendencia es a disminuirla, cuando se usan semillas de tomate, a 28 ° C, de acuerdo a lo que propone Upadhyaya(1986) (figura 34).

FIGURA 35 EFECTO SOBRE LA GERMINACION DE SEMILLAS DE *Triticum vulgare* DEL CARBENDAZIM Y LOS COMPUESTOS  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$  Y  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

**CARBENDAZIM**

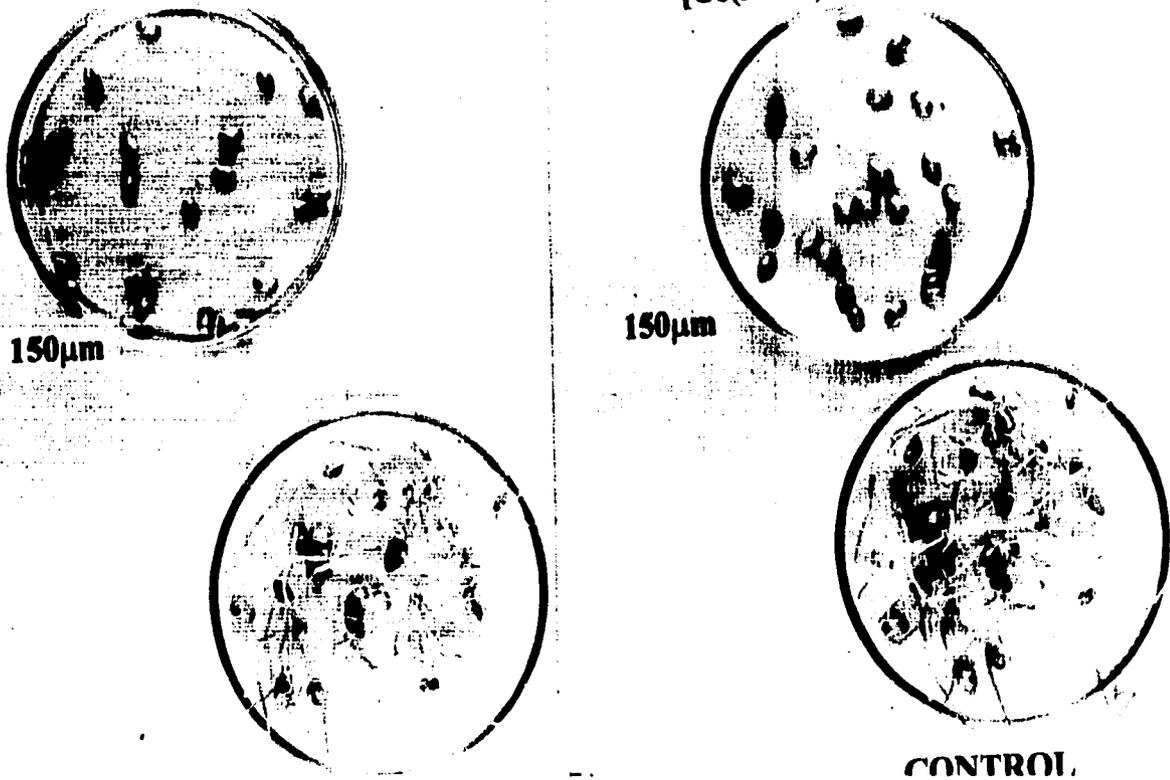


*Triticum vulgare*



*Triticum vulgare*

$[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$



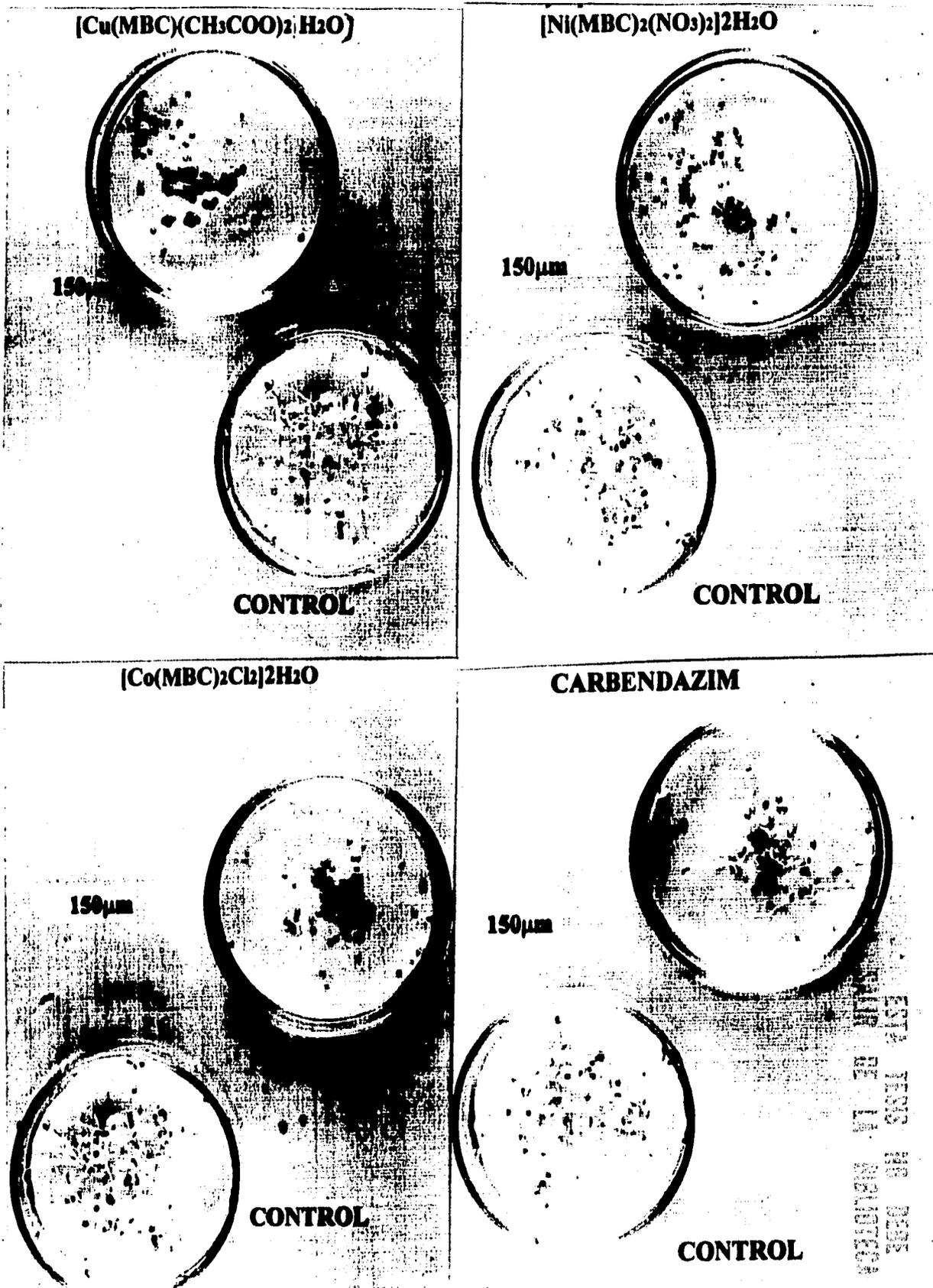


FIGURA 36 EFECTO DE LOS COMPUESTOS QUE SE MUESTRAN, SOBRE LA GERMINACION DE SEMILLAS DE *Phisalis ixocarpa*.

### **Sorghum halepense**

Los experimentos se realizaron a 28 ° C, con una concentración de a 150µM y un tiempo de exposición de 96 hrs.

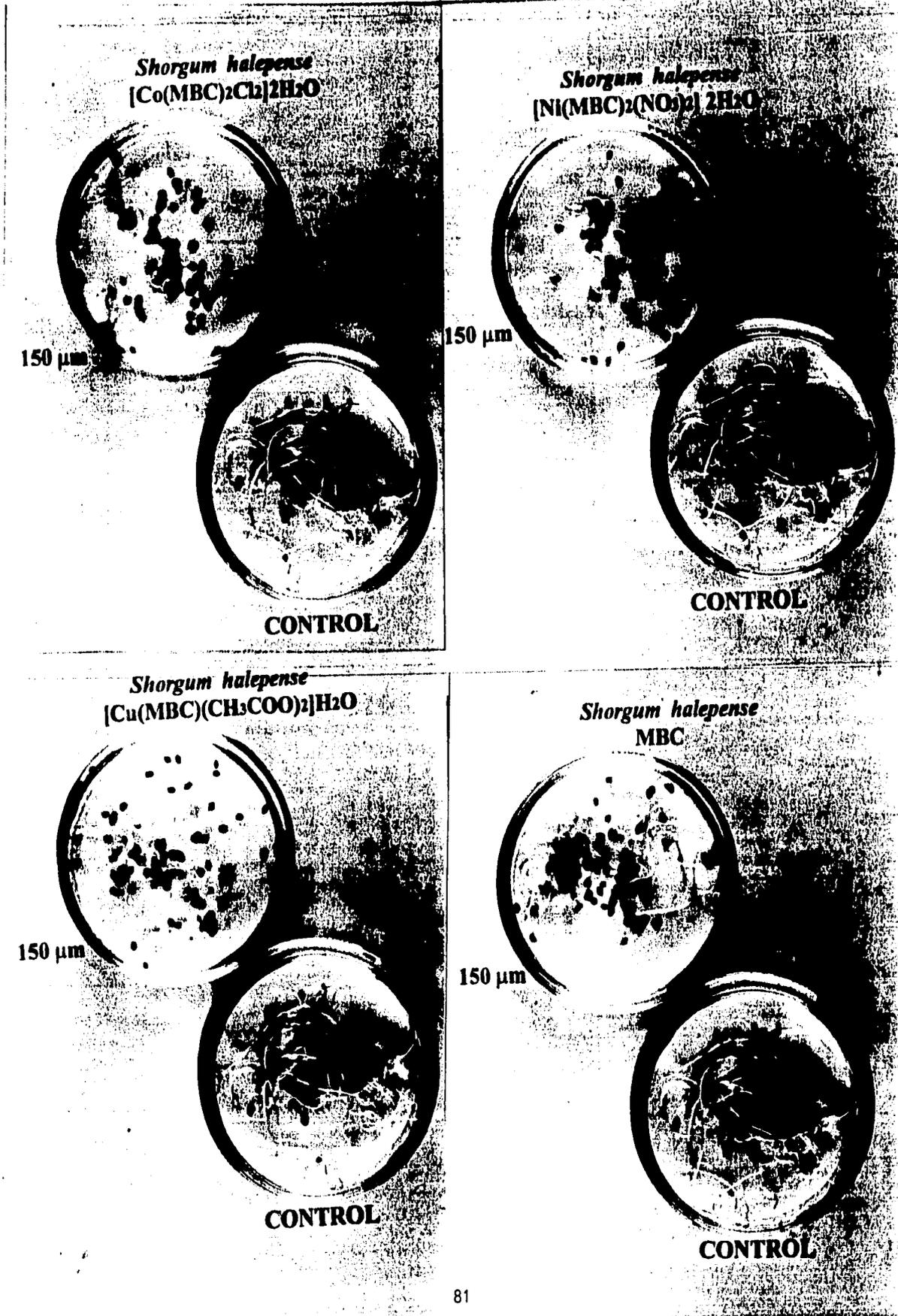
El MBC inhibe, la germinación de **Sorghum halepense**, un 54% a 150 µM, afectando poco el crecimiento radicular (figura 37). En cambio sus compuestos de coordinación presentaran mayor inhibición de la germinación de estas semillas. El compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$  inhibe la germinación un 61% y el crecimiento radicular moderadamente respecto al control. El compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  inhibe la germinación de **Sorghum halepense** 64% y el crecimiento radicular se inhibe más que el crecimiento del tallo, como se muestra en las figuras 34 y 37.

El compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  resultó ser el mas activo ya que afecta hasta un 83% e inhibe el crecimiento radicular en relación al control ( figuras 34 y 37),

### **Cassia obtusifolia**

El ligante MBC resultó ser activo, presentando una inhibición de 92% en la germinación de semillas de **Cassia obtusifolia**, en las condiciones descritas. Los compuestos de coordinación del MBC presentan mayor actividad inhibitoria de la germinación de esta maleza que el propio ligante, ya que el compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  inhibe 96% la germinación de éstas semillas de maleza, (figura 38). Los compuestos  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$  y  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  fueron los mas activos ya que inhiben 100% ésta germinación a 150µM de concentración en tan solo 24 horas de exposición y no hay recuperación posterior. Se puede decir que los cuatro compuestos utilizados son bastante activos sobre la inhibición de la germinación de semillas de **Cassia obtusifolia**, pero los compuestos  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  y  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$  en mayor grado que el compuesto  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$  y el MBC, en relación con el control, en estas condiciones.

FIGURA 37 EFECTO SOBRE LA GERMINACION DE SEMILLAS DE *Sorghum halepense* DEL MBC Y SUS COMPUESTOS DE COORDINACION.



Se han reportado la fisiología y los procesos bioquímicos requeridos para el crecimiento de la planta y desarrollo, incluyendo la división celular, alargamiento y diferenciación, en todas las reacciones de biosíntesis son promovidas por la energía derivada de ATP. Por lo tanto los compuestos ensayados pueden producir fitotoxicidad por acción directa en alguno de los pasos de las reacciones como la de los ácidos nucleicos y síntesis de proteínas ó indirectamente por la inhibición de la producción de energía celular que se requiere para impulsar las reacciones de biosíntesis (Moreland, 1980).

La dependencia de la división celular de la fosforilación oxidativa ha sido documentada extensivamente (Moreland, 1980).

La división celular en plantas superiores se suprime bajo condiciones en que la glucólisis y la fosforilación oxidativa son inhibidas o bien por inhibición de proteínas o de la síntesis de DNA y RNA. Algunos desacoplantes de la fosforilación oxidativa producen aberración mitótica.

#### **Correlación Estructura-Actividad.**

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta tesis, se puede observar que existe una relación entre las estructuras de los compuestos y la actividad biológica de los mismos, el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  con estructura tetraédrica fué, en la mayoría de los casos el que mostró mayor potencia, en relación con los compuestos octaédricos y pentacoordinado; especialmente sobre las malezas, tanto en los ensayos sobre plántulas vivas como en los experimentos de respiración y de germinación así como cuando se trabajó sobre los procesos fotosintéticos descritos, lo que se puede atribuir al impedimento estérico (Es) que es mas pronunciado en tanto los compuestos octaédricos de níquel como el pentacoordinado de cobre, en relación con el tetraédrico de cobalto, que puede impedir mas fácilmente su actuación sobre los sistemas biológicos estudiados. Sin embargo, también se puede decir que los compuestos de coordinación, resultaron ser, en la mayoría de los casos, mas potentes que el ligante MBC, como se plantea en la hipótesis propuesta, aunque la estructura del MBC es bastante plana, pero parece ser que los iones

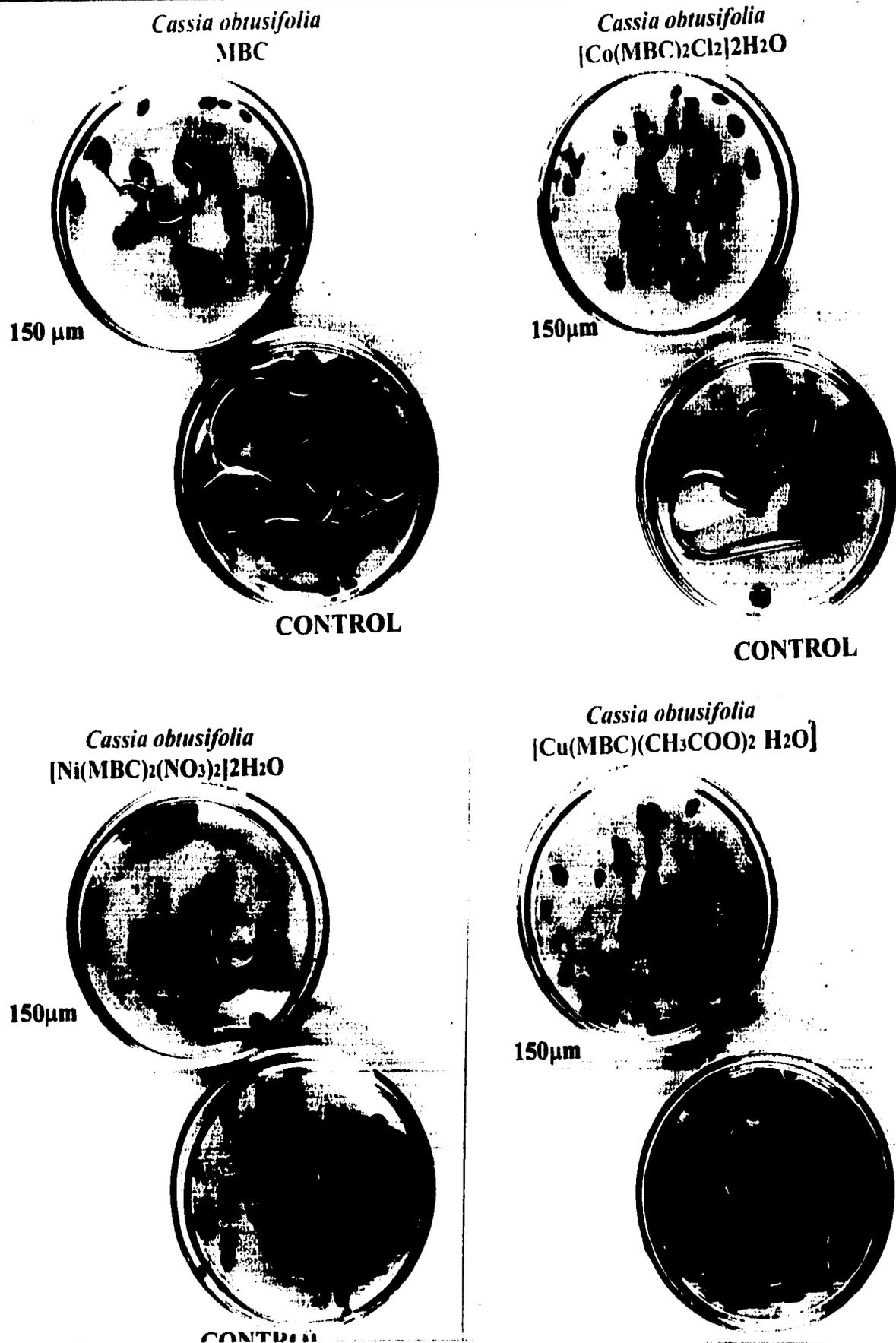


FIGURA 38 EFECTO DE LOS COMPUESTOS QUE SE MUESTRAN, SOBRE LA GERMINACION DE SEMILLAS DE *Cassia obtusifolia*. 82

metálicos potencian su efecto sobre los procesos estudiados en esta tesis, sobre todo en la respiración y germinación de semillas, ya que en las actividades fotosintéticas todos se comportaron como desacoplantes no clásicos en mayor o en menor grado, comportamiento parecido a los compuestos estudiados por Osabe y Cols., 1992.

Es importante mencionar que todos los compuestos estudiados en esta tesis son hidrofóbicos y que a esto se les puede atribuir su efecto desacoplante en los procesos fotosintéticos de forma diferente a la que reportan Balaz y Cols., 1986; ya que en este caso se puede presentar balance hidrofóbico-hidrofílico que les permite llegar al sitio de acción, Otra posibilidad está en que la estructura tetraédrica posee reactividad libre, lo que le permite liberarse en el sitio de acción para llegar a afectar con más facilidad a los procesos biológicos con relación a las estructuras octaédricas y la pentacoordinada.

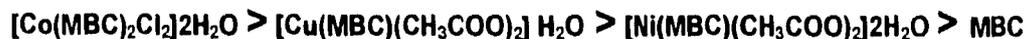
También se relacionan con su actividad inhibitoria en la respiración y germinación de semillas, de forma similar a la reportada por Sotomatsu y Cols., 1987.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES:

1. Se sintetizaron diferentes compuestos de coordinación del 2-metil bencimidazol carbamato (MBC) con diferentes sales metálicas de cobre(II), níquel(II) y cobalto(II), por medio del método general de síntesis propuesto, del cual se modificaron algunas variables (temperatura, disolvente, pH y tiempo de reacción); se obtuvieron los siguientes compuestos  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$ ,  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]4\text{H}_2\text{O}$ ,  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$ ,  $[\text{Ni}(\text{MBC})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ,  $[\text{Ni}(\text{MBC})_2(\text{NO}_3)_2]2\text{H}_2\text{O}$  y  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$ . Estos compuestos se caracterizaron por métodos analíticos y espectroscópicos.
2. El compuesto  $[\text{Cu}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}]$ , presentó geometría pentacoordinada en donde se coordina un MBC por medio del carboxilo del grupo carbamato y por el N imidazólico, también se coordinan dos acetatos en forma monodentada y el termograma indica que se tiene una molécula de agua dentro de la esfera de coordinación del compuesto.
3. En los compuestos de níquel  $[\text{Ni}(\text{MBC})(\text{CH}_3\text{COO})_2]2\text{H}_2\text{O}$ ,  $[\text{Ni}(\text{MBC})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ , y  $[\text{Ni}(\text{MBC})_2(\text{NO}_3)_2]2\text{H}_2\text{O}$  predomina la geometría octaédrica, el ligante se coordina de forma bidentada y con ayuda del análisis termogravimétrico se determina la cantidad y la posición de las moléculas de agua mediante las pérdidas de peso y las temperaturas en las que ocurren.
4. En el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] 2\text{H}_2\text{O}$ , dos moléculas de Carbendazim (MBC) se coordinan solamente por medio del nitrógeno imidazólico disponible, ya que el MBC presenta un puente de hidrógeno; completando la esfera de coordinación con dos cloros, con lo que se obtiene un compuesto con geometría tetraédrica.
5. Se obtuvieron cristales del MBC y del compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2] 2\text{H}_2\text{O}$  con los cuales se realizó el estudio por difracción de rayos-X, donde se determinan con precisión los ángulos y las distancias entre los átomos que forman cada compuesto, definiendo la estructura tetraédrica del compuesto de cobalto; con estos resultados se corrobora la hipótesis planteada (1), en cuanto a la forma de coordinarse el MBC, ya que presenta un puente de Hidrógeno y una tautomería, lo que explica las diferentes maneras de formar enlaces coordinados. Con la información que arroja este estudio se continuará trabajando.

6. Se estudiaron los efectos del Carbendazim y sus compuestos de coordinación en la fotosíntesis *in vitro* (transporte de electrones basal, fosforilado y desacoplado, fotofosforilación, captación de protones y actividad de H<sup>+</sup>-ATPasa ); encontrando que todos se comportan como desacoplantes no clásicos y por orden de mayor a menor potencia, resultó ser:



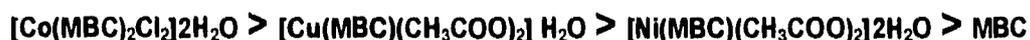
Además el compuesto  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]2\text{H}_2\text{O}$  se comportó como inhibidor débil de la reacción de Hill.

7. Se ensayaron los efectos del MBC y sus compuestos de coordinación aplicados durante 10 días en solución acuosa en concentraciones de 50, 100 y 150  $\mu\text{M}$  sobre plántulas de gramíneas de uso agrícola y de malezas *in vivo* encontrándose lo siguiente:

Se observó que las plántulas de trigo (hoja angosta) no fueron afectadas de manera notoria en cambio las plantulas de tomate (hoja ancha) presentaron clorosis en presencia de los compuestos a 150  $\mu\text{M}$  en el siguiente orden de actividad:



Cuando se trabajó con malezas (hoja ancha) *in vivo*, el MBC y todos sus compuestos de coordinación mostraron un gran efecto clorótico sobre las hojas y el crecimiento de las plántulas de *Salvia microphylla*. Encontrándose el siguiente orden de actividad, en concentraciones de 50 y 100  $\mu\text{M}$ :



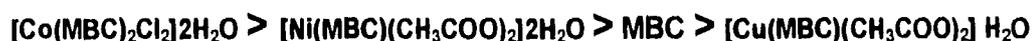
De lo anterior se podría decir que éstos compuestos pueden funcionar como herbicidas selectivos para plantas y malezas de hoja ancha ya que no afectan a las gramíneas de hoja angosta como el *Triticum vulgare*, y pueden actuar como herbicidas con actividad post-emergente, en estas condiciones.

8. Usando diferentes tipos de semillas de malezas y de gramíneas de uso agrícola, se estudió el efecto del ligante y sus compuestos sintetizados sobre la respiración de semillas, encontrando:

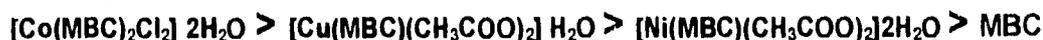
- Con semillas de *Triticum vulgare*, de 24 a 72 hrs. de exposición, usando los compuestos en concentraciones de 50,100, 150 y 200  $\mu\text{M}$ , se observó que actúan como desacoplantes con el siguiente orden de actividad:



- Con semillas de *Physalis ixocarpa* a las 96 hrs. de exposición a 28 ° C, en concentraciones de 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{M}$ , se observó el siguiente orden de la actividad desacoplante:



- Con semillas de *Shorghum halepense* la actividad inhibitoria desacoplante de los compuestos en concentraciones de 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{M}$  a las 72 hrs. de exposición a 28 ° C, se presentó en el siguiente orden:

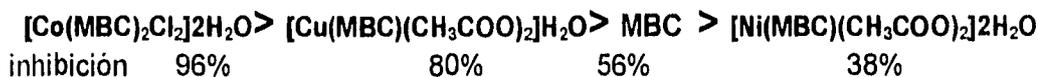


- Con semillas de *Cassia obtusifolia* a las 24 hrs. de exposición a 28 ° C, se observó el siguiente orden de actividad de los compuestos usados en concentraciones de 50,100,150 y 200  $\mu\text{M}$ :

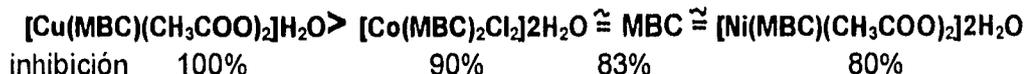


9. Al determinar el efecto del MBC y sus compuestos a 150  $\mu$ M en la germinación de semillas, a las 96 hrs. (4 días) de exposición a 28 °C, se obtuvo lo siguiente:

- Con semillas de *Triticum vulgare* se observó que presentan el siguiente orden de actividad:

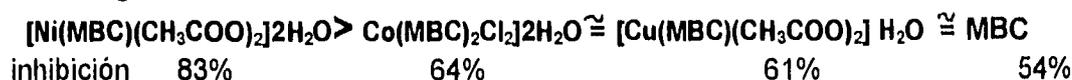


- Con semillas de *Physalis ixocarpa* se observó el siguiente orden de actividad:



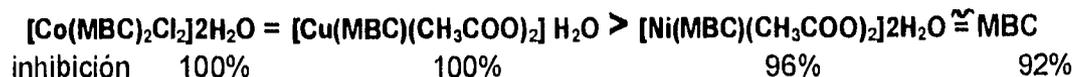
De acuerdo a los porcentajes, se observa una mayor tendencia de inhibición del compuesto de cobalto con respecto al MBC y al compuesto de níquel.

- Con semillas de *Shorghum halepense* la actividad de los compuestos se presentó en el siguiente orden



De acuerdo a los porcentajes, se observa una mayor tendencia de inhibición del compuesto de cobalto con respecto al compuesto de cobre y de este último con el MBC.

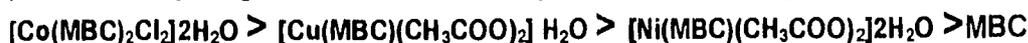
- Con semillas de *Cassia obtusifolia* se observó que presentan el siguiente orden de actividad:



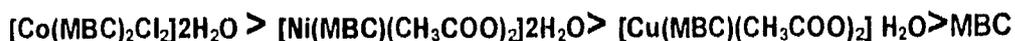
10. Por último se correlacionan todos los resultados obtenidos, de lo que se puede concluir:

a) Existe una **relación entre las estructuras de los compuestos y la actividad biológica** de los mismos, el compuesto tetraédrico  $[\text{Co}(\text{MBC})_2\text{Cl}_2]_2\text{H}_2\text{O}$  fué el que **mostró mayor actividad, sobre todo sobre las malezas, tanto en germinación como en respiración y en fotosíntesis**, con lo que se puede decir que la estructura tetraédrica permite que el compuesto afecte con mayor facilidad a los sistemas biológicos utilizados en esta tesis, en comparación con las estructuras octaédricas y pentacordinada.

b) Se observa una **selectividad** para proponer su uso con posibilidad herbicida para plantas de **hoja ancha**, utilizandose en tratamientos de **POST-EMERGENCIA**, en virtud de que en las plantas de hoja angosta no se afectan, se propone el orden siguiente:



c) Otro tipo de uso que se sugiere es en tratamientos en **PRE-EMERGENCIA** para usarse en todo tipo de malezas (hoja ancha y hoja angosta), con posibilidad herbicida, en el siguiente orden:



## BIBLIOGRAFIA:

1. Alt J., Winter P., Sebald W., Moser J. G.; Schedel R., Westhoff P. and Herrmann G. (1983). "Localization and nucleotide sequence of the gene for the ATPsynthase proteolipid subunit on the spinach plastid chromosome". *Current genet.* 7: p129-138.
2. Anderson J. M. (1986). "Photoregulation of the composition, function and structure of thylakoid membranes". *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 37: p93-136.
3. Armstrong F. B., (1989). "*Biochemistry*", 3ª edición, Edit. Oxford University Press, New York, p329-357.
4. Arnon D. I. (1949). "Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*". *Plant physiol.* 24: p1-15.
5. Ashton, F.M. y Crafts, A.S. (1973), "Mode of action of herbicides", John Willey & Sons, New York, USA., p 247-262.
6. Audus L. J. (1985). "*The Physiology and Biochemistry of Herbicides*", 4ª ed, Edit. Academic Press, Londres, p 1-20, 394-395,
7. Avron M. and Shavit N. (1965). "Inhibitors and uncouplers of photophosphorilation", *Biochem. Biophys. Acta.* 109: p317-331.
8. Baláz S., Sturdík E., Durcová E., Antalík M. & Sulo P., (1986) "Quantitative structure-activity relationship of carbonylcyanide phenylhydrazones as uncouplers of mitochondrial oxidative phosphorylation". *Biochimica et Biophysica Acta. Elsevier.* 851: p93-98.
9. Barba-Behrens N., et al., (1990). "Coordination compounds derived from the interaction of..." *Journal of Inorganic Biochemistry.*, 40: p201-215.
10. Barba-Behrens N., et al., (1990). "Coordination and characterization of new transition metal complexes of nitroimidazoles...". *Polyhedron*, 10, (12): p1339-1341.
11. Barba-Behrens N., et al., (1993). "Coordination compounds quinic acid as decouplers on photosynthesis". *Biophysical Chemistry*, 47, Elsevier Science publishers B.V., Amsterdam, p67-75.

12. Bewley Derek J. & Black M. (1994), "Seeds Physiology of Development and Germination". Plenum Press. New York and London, p246-316.
13. Boyer P. A., *et al.* (1977). "Oxidative phosphorylation and photophosphorylation". *Ann Rev. Biochem.* 46: p955-1026.
14. Calera M. R., Mata R., Anaya A. and Lotina-Hennsen. (1995). "5-O-B-D-galactopyranosyl-7-methoxy-3', 4'-dihydroxy-4-phenylcoumarin, an inhibitor of photophosphorylation in spinach chloroplasts. *Photosynthesis research.* 45: p105-110.
15. Cedeno M. A. and Swader J. A. (1972). "The cupric ion as an inhibitor of photosynthetic electron transport in isolated chloroplasts". *Plant Physiol.* 50: p698-701.
16. Carmeli, C. (1969), "*Biochem. Biophys. Acta.*, 189: 256-266.
17. Carmeli, C. (1970), "*Febs letters*, 7(3): p297-300.
18. Danks S., Evans E. H. and Whittaker P. (1983). "Photosynthetic system". Ed Willey and Sons, New York, p234-241.
19. Daudse L.C. (1974). "Mode of action of methyl benzimidazol 2-yl carbamate..". (Lab. phytopathol Agric. Univ.Wageningen. Neth).*Systemfungiz, Int. Symp.* (1975): p137-143.
20. Dilley R. A. (1972). "Ion Transport". *Methods in Enzymology.* XXIV: p68-75.
21. Douce R. and Day D.A., "Encyclopedia of plant Physiology" New Series. V.18. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. N.Y., Tokio., p108-204.
22. Dodge A. D., (1987), "Potential New Targets for Herbicides". *Pestic. Sci.* 20: p301-313.
23. Draber W. and Fedtke c. (1978). "Advances in Pesticide Science. Part 2".(Geissbuherler H.) De. Pergamon press Oxford, p475-486.
24. Einhillig F.A.,(1985)"Handbook of natural pesticides meeting".Voll, (N. Bhushan Mandava Ed.) CRC Press Inc., p3-19.
25. Faludi-Daniel A., *et al.* (1993). "Distribution of characteristic membrane proteins in granum and stroma thylacoids". *Eur. J. Biochem.* 131: p567-570.

26. Giaquinta R. T. and Dilley R. A. (1975). "A partial reaction in FS II: Reaction of silicomolibdate prior to the site of dicholophenyldimethylure inhibition". *Biochem. Biophys. Acta.* 387: p288.
27. Golbeck J:H;, et al. (1977). "Electron Transport in Chloroplasts". *Enciclopedia of Plant Physiol.* 5: p94-115.
28. Good N. E. (1977). "Uncoupling of electron transport from phosphorylation in chloroplasts". *Enciclopedia of plant physiol.* 5:429-436.
29. Goul J. M. (1976). "Inhibition by triphenyltin chloride of a tightly-bound membrane componenet involved in photophosphorylation". *Eur. J. Biochem.* 62: p567-575.
30. Govindjee L. and Govindjee R. (1974). "The absorption of light in photosynthesis" *Science American.* 231: p68-82.
31. Greengood, N. N. et al,(1984), "Chemistry of the Elements" . Pergamon press. Oxford. England, p245-286.
32. Hathway, D.E. (1986) "Herbicide selectivity". *Biol. Rev.* 61. p435-486.
33. Hauska G. (1977). "Artificial acceptors and donors". *Enciclopedia of plant physiol. new series.* 5: p253-265.
34. Hill R. and Bendall D. S. (1960). "Function of the two cytochrome components in chloroplasts: A working hypothesis". *Nature.* 186: p136-137.
35. Hodges C. F. (1981). "Preemergence Herbicides and the severity of Leaf Spot Caused by *Drechelera sorokiniana* on *Poa pratensis*". *Phytopathology.* 71: p720-722.
36. Hooper J. K. (1984). "Chloroplasts", Edit. Plenum Press, New York, p47-61,
37. Huges M.N., (1987). "Comprehensive coordination chemistry" . Ed. Wilkinson, V.6, Pergamon press, Oxford, p541.
38. Huheey, et al, (1992), "Inorganic Chemistry". 4th. De. N.Y.
39. Hurt E. and Hauska G. (1981). "A cytochrome f/b<sub>6</sub> complex of five polypeptides with plastoquinol-plastocyanin-oxidoreductase activity from spinach chloroplasts". *Eur. J. Biochem.* 117: p591-599.

40. Izawa S. (1977). "Inhibitors of electron transport". *Enciclopedia of plant physiol. new series.* 5: p266-282.
41. Izawa S. and Good N. E. (1972). "Inhibition of Photosynthetic Electron Transport and Photophosphorylation" *Methods in Enzymology.* XXIV:2: p355-377.
42. Izawa S. and Pan R. L. (1978). "Photosystem I electron transport and phosphorylation supported by electron donation to the plastoquinone region". *Biochem Biophys. Res. Comm.* 83: p1171-1177.
43. Janardhan R., Sethuram B. and Navaneeth R. (1985). " Synthesis and Spectroscopic and Fungicidal Characterization of hidroxamic acids and treir Metal Chelates". *J. of inorg. Biochem.*24: p 155-160.
44. Junge M. (1970). "The critical Electrical Potential diference for photophosphorylation, its relation to the chemiosmotic hipoteis and to the triggering requirements of the ATPase system". *Eur. J. Biochem.* 14: p582-592.
45. King D. B. *et al.* (1993). "Características desacoplantes del cloruro de cobalto en la fotofosforilación" *Memorias del VIII congreso de Bioquímica*: p115-17.
46. Kriton K. H. and Penner D. (1980). "Absorption, Translocation and Metabolism of <sup>14</sup>C-Buthidazole in Alfalfa...". *Weed Science.*28: p 635-639.
47. Ken-ichiro M., *et al.* (1986). "Quantitative structure-activity relationship of photosystem II inhibitors in chloroplasts and its link to herbicidal action". *J. Agric. food chem.* 34: p725-73.
48. Lehninger A.L. Nelson D. L., Cox M. M. (1993). "*Principles of Biochemistry*", Edit Worth, 2a edición, New York, p346,389-396.
49. Lever, A.B.P. (1984) "Inorganic Electronic Spectroscopy". 2nd Ed. p.497-304. N.Y.
50. Lotina-Hennsen B.,*et al.*, (1987). "Uncoupling of Photophosphorilation". *Photochemistry and Photobiology.*, Pergamon Journals LTD. 46,(2): p287-293.

51. Lotina H. B., Barba-Behrens N., Castillo B. (1989). "Herbicidas y productividad agricola". *Rev. Soc. Quim. Mex.* 33: p109-117.
52. Lotina-Hennsen B., García B., Aguilar M., Albores M., (1987). "Benzofuroxan as electron Acceptor at Photosystem I". *Z. Naturforsch.* 42C: p1265-1268.
53. Lotina-Hennsen, B., Albores-Velazco, M. y García Chavez, L. (1989), "Herbicidas y productividad agricola". *Rev. Soc. Quim. Mex.*, 33, (20). P109-117 Dodge A. D., (1987), "Potential New Targets for Herbicides". *Pestic. Sci.* 20: p301-313.
54. Malan C., Visser J. H. and Grobbelaar N. (1981). "Control of problem weeds of maize on the Transvaal Highveld (south Africa) I. *Tagetes minuta* L". *Weed Research*, 21: p235-241.
55. Martmann et al. (1988), "Plant science growth development and utilization of cultivated plants". Prentice Hall, p 674.
56. McCarty R. E. (1977). "Energy Transfer Inhibitors of Photophosphorilation in Chloroplasts". *Enciclopedia of Plant Physiol.* new series, 5: p436-447.
57. Mills J. D., Mitchell. P. and Schürmann. P. (1980). "Modulation of Coupling Factor ATPase Activity in Intact Chloroplasts". *Febs letters.* 112: p173-177.
58. Mitchell P. (1977). "A comentary on alternative hipotheses of protonic coupling in the membrane system catalysis oxidative and photosynthetic phosphorylation". *Febs letters.* 78: p1-20.
59. Merrit C. R. (1983). "Some effects of moisture stress on the *Stellaria media* leaf and the action of ioxynil ester". *Aspects of Applied Biology.* 4, p 171-177.
60. Moreland D. E. (1980). "Mechanisms of action of herbicides". *Ann Rev. Plant Physiol.* 31: p597-638.
61. Moreland D. E. ( 1992), "Research on Biochemistry of Herbicides : An Historical Overview". *Department of Crop Science, North Caroline State University, U.S.A.* 48c, p121-131.

62. Moreno E. M. (1984) "Análisis físico y biológico de semillas agrícolas". *Inst. de Biol. UNAM. Mex.* p123-147.
63. Naturfo Z., (1993), "Chloroplast Metabolism and Its Inhibition by Herbicides". *International workshop at Omiya Sonic City, Japan, august 26-28, 48c*, p119-121.
64. Nakamoto, K. (1989), "Infrared and Raman spectra of Inorganic Chemicals and Coordination Compounds". Fourth Ed. John Willey & Sons. N.Y., p247, 233.
65. Neumann J. and Jagendorf. A. T. (1964). "Dinitrophenol as an Uncoupler of Photosynthetic Phosphorylation". *Biochem. and Biophys. Res. Comm.* 16: p562-567.
66. Nicholls D. G. and Ferguson S. J. (1982) "*Bioenergetics*". Ed. Academic Press. San Diego), p41-62.
67. Ort D. R. (1976). "On the mechanism of control of photosynthetic electron transport by phosphorylation". *Febs letters.* 69: p81-85.
68. Ort D. R. (1977). "Energy transduction in oxygenic photosynthesis: An overview of structure and mechanism". *Enciclopedia of Plant Physiol. new series.*, 5: p142-196.
69. Osabe H., Morishima Y., Goto Y. & Masamoto K. (1992), "Quantitative Structure-Activity Relationships of Light-Dependent Herbicidal 4-Pyridone-3-Carboxanilides I. Effect of Benzene Ring Substituents at the Anilide Moiety". *Pestic. Sci.* 34: p17-25.
70. Peña V. C. y Lotina H. B. (1989). "H<sup>+</sup>-ATPasa (Cf<sub>0</sub>-Cf<sub>1</sub>) de cloroplastos". *Bol. Educ. Bioquim.* 8: p52-61.
71. Peña-Valdivia B.C., et al.,(1991). "Inhibition of photophosphorylation and electron transport by N,N-dimethylformamide". *Biophysical Chemistry* 41, Elsevier Science publishers B.V., Amsterdam. p169-174.
72. Perez-Garcia F., Iriondo J. M. & Martinez-laborde J.B., (1995), "Germination behaviour in seeds of *Diplotaxis eruroides* and *D. virgata*". *Weed Research*, 35, p495-502.

73. Pick U. and Racker E. (1979). "Purification and reconstitution of the N,N-Dicyclohexylcarbodiimide-sensitive ATPase complex from spinach chloroplasts". *J. Biol. Chem.* 254: p2793-2999.
74. Pimentel D., (1981) "A general classification of currently used herbicides". *C.R.C. Press, Inc. Ed. VII. CRC Handbook of pest management in Agriculture*, p76-94.
75. Pimentel D., (1991) "Pesticides and world food supply". *Chemistry in Britain*. July, p646-7.
76. Pressman B.C.(1973) "Inorganic Biochemistry" Ed:Eichhorn G.L., Elsevier Amsterdam, vol I, p203.
77. Rojas, M.G. y Rovalo, M.(1984) " *Fisiología Vegetal Aplicada McGraw-Hill 3a Ed. México, D:F, p125-138.*
78. Rice, E.L.,(1984),"Allelopathy. Academic Press, Inc. U.S.A., p147-370.
79. Sotomatsu T., Nakagawa Y. & Fujita T. (1987) "Quantitative Structure-Activity Studies of Benzoylphenylurea Larvicides". *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 27: p156-164.
80. Standell Ch. J., (1985) " The pre-emergence activity of thirteen herbicides on the seed of trifolium repens both surface-sown and buried". *Weed Research Org. Begbroke Hill. Oxford*, p 94-96.
81. Sumer S. (1974). "Scientific apparatus and laboratory methods. a method for the colorimetric determination of phosphorous". *Science*. 100: p413-415.
82. Terada H. (1990). "Uncouplers of Oxidative Phosphorylation". *Environmental Health Perspectives*. 87: p213-218.
83. Trebst, A. (1972) "Measurement of Hill Reactions and Photoreduction". *Methods in Enzymology*. XXIV: p146-165
84. Trebs A. and Reimer, S. (1976). "Properties of photoreductions by photosystem II". *Plant Science Letters*. 6: p21-24.
85. Trebst,A. y Draber,W. (1978)," Advances in pesticide science.Part 2" (Geissbuberler,H).Ed. Pergamon press. Oxford, p 223-234.

86. Trebst A. and Draber. W. (1979). "Structure activity correlations of recent herbicides in photosynthetic reactions". *Advances in pesticide science*. 3: p223-234.
87. Trebst A., et al. (1984). "Structure activity correlation of herbicides affecting plastoquinone reduction by photosystem II". *Z. Naturforsch.* 39c: p405-411.
88. Upadhyaya M.K. (1986). " Effects of salicylhydroxamate on respiration and seedling growth in *Avena fatua*". *Physiol. Plant.* 67: p43-48.
89. Walton,P.D. (1988)" Principles and practices of plant science. Prentice Hall, p 439-55.
90. Weiss M. A. and McCarty R. E. (1977). "Cross-Linking within a subunit of coupling factor, increases the proton permeability of spinach chloroplasts thylakoids". *J. Biol. Chem.* 252: p8007-8012.
91. Yamashita T. and Warren, L. B. (1968). "Photoreduction and photophosphorylation with Tris-washed chloroplasts". *Plant Physiol.* 43: p1978-1986.
92. Zweig G. Shavit, N. and Avron, M. (1965). "Diquat in photoreactions of isolated chloroplasts". *Biochim. Biophys. Acta.* 109: p332-346.

## APENDICE

### Tablas de RAYOS-X para MBC.

**Tabla 1. Coordenadas atómicas.**

|       |         |           |          |       |       |         |           |          |       |
|-------|---------|-----------|----------|-------|-------|---------|-----------|----------|-------|
| C(1)  | 1543(2) | 1857(8)   | 1048(2)  | 42(2) | C(2)  | 960(2)  | 3212(9)   | 725(3)   | 39(2) |
| N(3)  | 446(2)  | 2285(8)   | -125(3)  | 43(2) | C(4)  | 390(2)  | -1219(10) | -1133(3) | 47(2) |
| C(5)  | 793(2)  | -3072(10) | -1138(3) | 55(3) | C(6)  | 1498(3) | -3350(10) | -387(3)  | 55(3) |
| C(7)  | 1815(2) | -1777(10) | 384(3)   | 50(2) | C(8)  | 1406(2) | 33(9)     | 387(3)   | 41(2) |
| C(9)  | 700(2)  | 348(9)    | -366(3)  | 38(2) | N(10) | 848(2)  | 5103(8)   | 1124(3)  | 43(2) |
| C(11) | 1395(2) | 5977(9)   | 1959(3)  | 42(2) | O(12) | 2006(1) | 5347(7)   | 2423(2)  | 52(2) |
| O(13) | 1164(2) | 7817(7)   | 2244(2)  | 64(2) | C(14) | 1675(3) | 9016(12)  | 3111(4)  | 75(3) |

**Tabla 2. Longitudes de enlace (Å).**

|             |           |             |           |             |           |
|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|
| N(1)-C(2)   | 1.353 (6) | N(1)-C(8)   | 1.398 (7) | C(2)-N(3)   | 1.350 (5) |
| C(2)-N(10)  | 1.338 (7) | N(3)-C(9)   | 1.379 (7) | C(4)-C(5)   | 1.377 (8) |
| C(4)-C(9)   | 1.378 (7) | C(5)-C(6)   | 1.401 (6) | C(6)-C(7)   | 1.383 (7) |
| C(7)-C(8)   | 1.370 (8) | C(8)-C(9)   | 1.405 (5) | N(10)-C(11) | 1.349 (5) |
| C(11)-O(12) | 1.217 (5) | C(11)-O(13) | 1.351 (7) | O(13)-C(14) | 1.427 (6) |

**Tabla 3. Angulos de enlace.**

|                   |          |                   |          |                   |          |
|-------------------|----------|-------------------|----------|-------------------|----------|
| C(2)-N(1)-C(8)    | 109.8(3) | N(1)-C(2)-N(3)    | 107.7(4) | N(1)-C(2)-N(10)   | 130.4(3) |
| N(3)-C(2)-N(10)   | 121.9(4) | C(2)-N(3)-C(9)    | 109.9(3) | C(5)-C(4)-C(9)    | 117.9(4) |
| C(4)-C(5)-C(6)    | 121.1(5) | C(5)-C(6)-C(7)    | 121.4(5) | C(6)-C(7)-C(8)    | 117.0(4) |
| N(1)-C(8)-C(7)    | 132.2(3) | N(1)-C(8)-C(9)    | 105.6(4) | C(7)-C(8)-C(9)    | 122.2(4) |
| N(3)-C(9)-C(4)    | 132.6(4) | N(3)-C(9)-C(8)    | 107.0(4) | C(4)-C(9)-C(8)    | 120.4(5) |
| C(2)-N(10)-C(11)  | 118.3(4) | N(10)-C(11)-O(12) | 129.7(5) | N(10)-C(11)-O(13) | 108.5(4) |
| O(12)-C(11)-O(13) | 121.8(4) | C(11)-O(13)-C(14) | 116.6(4) |                   |          |

**Tabla 4. Coeficientes anisotrópicos de desplazamiento.**

|       |       |       |       |       |       |        |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| N(1)  | 26(2) | 45(2) | 37(2) | 1(2)  | 7(1)  | 1(2)   |
| C(2)  | 24(2) | 49(3) | 34(2) | 0(2)  | 11(2) | 7(2)   |
| N(3)  | 22(2) | 51(3) | 38(2) | -2(2) | 6(1)  | -2(2)  |
| C(4)  | 36(2) | 53(3) | 41(2) | -1(2) | 16(2) | -1(2)  |
| C(5)  | 54(3) | 58(4) | 48(3) | -7(3) | 27(2) | -5(3)  |
| C(6)  | 57(3) | 49(3) | 58(3) | 17(3) | 32(2) | 7(3)   |
| C(7)  | 44(2) | 51(3) | 48(3) | 11(2) | 22(2) | 11(3)  |
| C(8)  | 34(2) | 43(3) | 37(2) | 3(2)  | 16(2) | 7(2)   |
| C(9)  | 31(2) | 40(3) | 40(2) | -3(2) | 17(2) | 4(2)   |
| N(10) | 26(2) | 47(2) | 42(2) | 0(2)  | 11(2) | -6(2)  |
| C(11) | 28(2) | 44(3) | 43(2) | -3(2) | 13(2) | -3(2)  |
| O(12) | 27(2) | 57(2) | 45(2) | 0(2)  | 4(1)  | -9(2)  |
| O(13) | 37(2) | 68(3) | 65(2) | (2)   | 15(2) | -29(2) |
| C(14) | 47(3) | 83(5) | 75(4) | (3)   | 23(3) | -32(4) |

**Tabla 5. Coordenadas de los átomos de H.**

|        |          |          |          |    |
|--------|----------|----------|----------|----|
| H(1)   | 1948(14) | 2193(93) | 1606(17) | 60 |
| H(3)   | 37(14)   | 3093(82) | -461(28) | 60 |
| H(4)   | -92      | -1025    | -1649    | 60 |
| H(5)   | 588      | -4193    | -1664    | 60 |
| H(6)   | 1767     | -4659    | -409     | 60 |
| H(7)   | 2300     | -1946    | 893      | 60 |
| H(14A) | 1454     | 10283    | 3244     | 60 |
| H(14B) | 2027     | 9739     | 3056     | 60 |
| H(14C) | 1888     | 7833     | 3617     | 60 |

**RESULTADOS DEL EFECTO SOBRE  
TRANSPORTE BASAL, FOSFORILADO Y DESACOPLADO  
A DIFERENTES CONCENTRACIONES:**

$$\text{VELOCIDAD} = \mu\text{eq} \cdot \text{e}^{-} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{mg Ch}\Gamma^{-1}$$

**ACTIVIDAD = %**

**MBC**

**CONC.      T. DE E. BASAL      T. DE E. FOSFOR.      T. DE E. DESAC.**

| [ $\mu\text{M}$ ] | VEL  | ACT   | VEL | ACT | VEL  | ACT   |
|-------------------|------|-------|-----|-----|------|-------|
| 0                 | 1240 | 100   | 500 | 100 | 2400 | 100   |
| 50                | 1760 | 141.9 | 600 | 120 | 3400 | 140.7 |
| 100               | 1880 | 151.6 | 700 | 140 | 3200 | 133.3 |
| 150               | 1960 | 158.1 | 900 | 180 | 3500 | 144.4 |
| 200               | 1840 | 148.4 | 900 | 180 | 3900 | 159.3 |

**[Cu(MBC)(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>] H<sub>2</sub>O ]**

| [ $\mu\text{M}$ ] | VEL | ACT | VEL | ACT | VEL  | ACT   |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|------|-------|
| 0                 | 200 | 100 | 500 | 100 | 2400 | 100   |
| 50                | 350 | 175 | 600 | 120 | 2800 | 116   |
| 100               | 500 | 250 | 700 | 140 | 3200 | 133.3 |
| 150               | 650 | 325 | 900 | 180 | 3400 | 141.6 |
| 200               | 700 | 350 | 900 | 180 | 3800 | 158   |

**[Co(MBC)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O**

| [ $\mu\text{M}$ ] | VEL  | ACT    | VEL | ACT | VEL   | ACT  |
|-------------------|------|--------|-----|-----|-------|------|
| 0                 | 1360 | 100    | 500 | 100 | 1880  | 100  |
| 50                | 1960 | 144.2  | 600 | 120 | 1520  | 80.8 |
| 100               | 2040 | 150.0  | 700 | 140 | 1680  | 89.4 |
| 150               | 2360 | 173.5  | 900 | 180 | 1880  | 100  |
| 200               | 1100 | 729.81 | 900 | 180 | 18400 | 97.9 |

**[Ni(MBC)(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O**

| [ $\mu\text{M}$ ] | VEL  | ACT   | VEL | ACT | VEL  | ACT   |
|-------------------|------|-------|-----|-----|------|-------|
| 0                 | 1280 | 100   | 500 | 100 | 1200 | 100   |
| 50                | 2080 | 162.5 | 600 | 120 | 1320 | 110.0 |
| 100               | 1880 | 146.9 | 700 | 140 | 1600 | 133.3 |
| 150               | 1840 | 143.8 | 900 | 180 | 1520 | 126.7 |
| 200               | 1920 | 150   | 900 | 180 | 1400 | 116.7 |

CAPTACION DE PROTONES

MBC

| CONCEN TRACIO N $\mu$ M | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0                       | 49.0      | 100       | 48.9      | 100       | 49.1      | 100       |
| 50                      | 49.0      | 100       | 48.9      | 100       | 48.8      | 100       |
| 100                     | 66.5      | 135       | 66.7      | 135       | 66.9      | 135       |
| 150                     | 75.3      | 153       | 75.8      | 153       | 75.5      | 153       |
| 200                     | 77.0      | 157       | 77.3      | 157       | 77.1      | 157       |
|                         |           |           |           |           |           |           |
|                         |           |           |           |           |           |           |

$[Cu(MBC)(CH_3COO)_2] \cdot 2H_2O$

| CONCEN TRACIO N $\mu$ M | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0                       | 268       | 100       | 268       | 100       | 267       | 100       |
| 50                      | 189.84    | 70        | 189.74    | 70        | 189.82    | 70        |
| 100                     | 100.50    | 37.5      | 100.49    | 37.5      | 100.47    | 37.5      |
| 150                     | 33.501    | 12.5      | 33.500    | 12.5      | 33.499    | 12.5      |
| 200                     | 55.832    | 20.8      | 55.812    | 20.8      | 55.823    | 20.8      |

$[Co(MBC)_2Cl_2] \cdot 2H_2O$

| CONCEN TRACIO N $\mu$ M | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0                       | 40.2      | 100       | 40.1      | 100       | 40.2      | 100       |
| 50                      | 13.4      | 37.0      | 13.3      | 37.0      | 13.2      | 37.0      |
| 100                     | 4.5       | 11.0      | 4.5       | 11.0      | 4.4       | 11.0      |
| 150                     | 5.9       | 14.6      | 5.8       | 14.6      | 5.9       | 14.6      |
| 200                     | 2.9       | 7.4       | 2.7       | 7.4       | 2.8       | 7.4       |

$[Ni(MBC)(CH_3COO)_2] \cdot 2H_2O$

| CONCEN TRACIO N $\mu$ M | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0                       | 56.0      | 100       | 55.8      | 100       | 55.9      | 100       |
| 50                      | 102.5     | 183.0     | 102.4     | 183.0     | 102.3     | 183.0     |
| 100                     | 88.5      | 158.0     | 88.3      | 158.0     | 88.4      | 158.0     |
| 150                     | 60.5      | 108.0     | 60.4      | 108.0     | 60.6      | 108.0     |
| 200                     | 84.0      | 150.0     | 83.9      | 150.0     | 83.8      | 150.0     |

$$\text{VELOCIDAD} = \mu\text{m H}^+ \text{ o ATP} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{mg chl}^{-1}$$

ACTIVIDAD := %

## SINTESIS DE ATP

### MBC

| CONCENTRACION<br>N $\mu$ M | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0                          | 360.5     | 100       | 359.5     | 100       | 358.5     | 100       |
| 50                         | 308.0     | 85.0      | 306.0     | 85.0      | 307.0     | 85.0      |
| 100                        | 343.0     | 95.0      | 342.6     | 95.0      | 342.0     | 95.0      |
| 150                        | 304.5     | 84.0      | 303.5     | 84.0      | 303.8     | 84.0      |
| 200                        | 290.5     | 80.5      | 289.7     | 80.5      | 289.5     | 80.5      |

### [Cu(MBC)(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>] H<sub>2</sub>O

| CONCENTRACION<br>N $\mu$ M | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0                          | 1540.0    | 100       | 1539.0    | 100       | 1539.6    | 100       |
| 50                         | 1470.0    | 95        | 1469.7    | 95        | 1468.9    | 95        |
| 100                        | 1312.5    | 85        | 1311.8    | 85        | 1311.4    | 85        |
| 150                        | 1050.0    | 68        | 1049.3    | 68        | 1049.6    | 68        |
| 200                        | 962.0     | 62        | 961.9     | 62        | 961.7     | 62        |

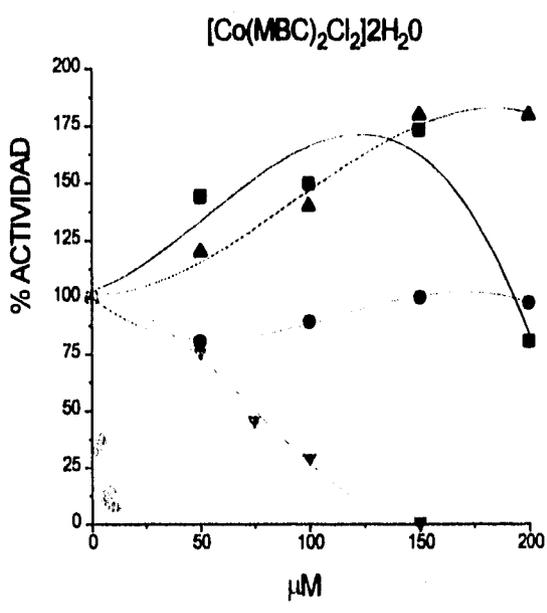
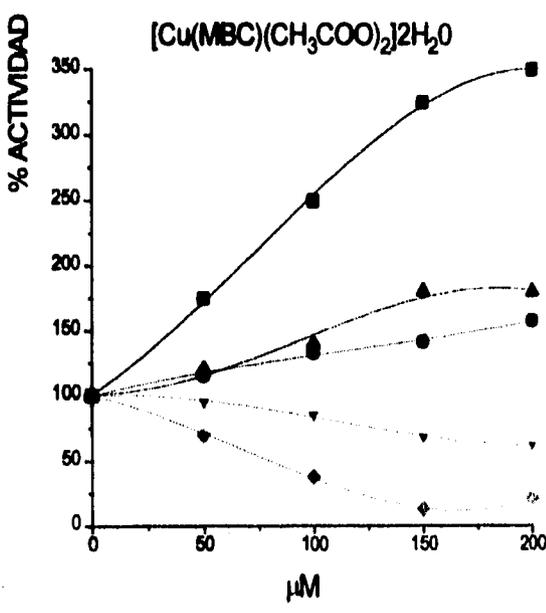
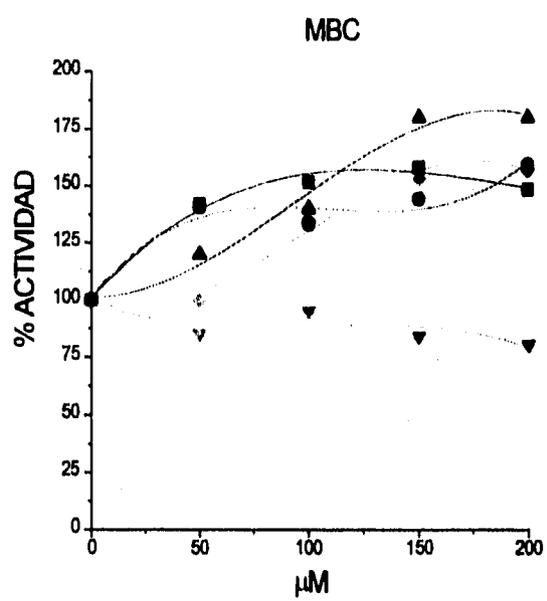
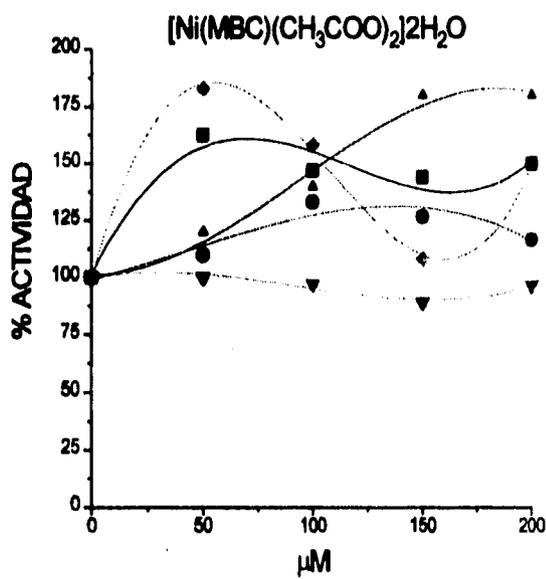
### [Co(MBC)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]2H<sub>2</sub>O

| CONCENTRACION<br>N $\mu$ M | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0                          | 208.0     | 100       | 207.9     | 100       | 207.6     | 100       |
| 50                         | 157.8     | 75.8      | 157.7     | 75.8      | 157.4     | 75.8      |
| 75                         | 95.3      | 45.8      | 95.2      | 45.8      | 95.2      | 45.8      |
| 100                        | 61.04     | 29.3      | 61.06     | 29.3      | 61.07     | 29.3      |
| 150                        | 1.48      | 0.7       | 1.46      | 0.7       | 1.47      | 0.7       |
| 175                        | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| 200                        | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |

### [Ni(MBC)(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>]2H<sub>2</sub>O

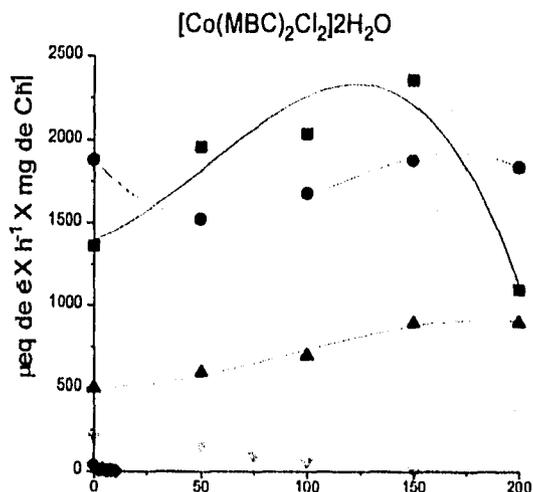
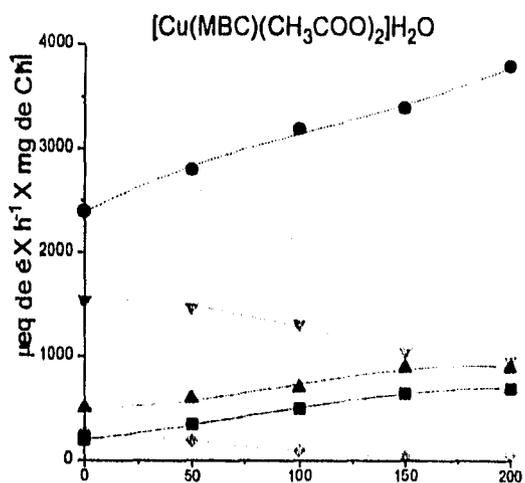
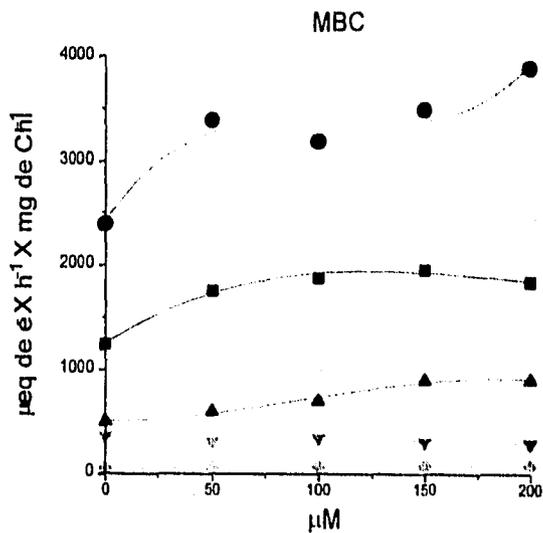
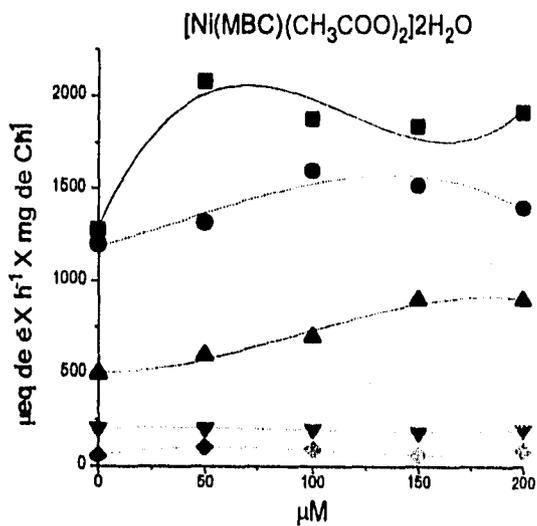
| CONCENTRACION<br>N $\mu$ M | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD | VELOCIDAD | ACTIVIDAD |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0                          | 205.0     | 100       | 205.0     | 100       | 205.0     | 100       |
| 50                         | 205.0     | 100       | 204.8     | 100       | 205.0     | 100       |
| 100                        | 183.1     | 89.0      | 183.2     | 89.0      | 183.7     | 89.0      |
| 150                        | 187.9     | 93.0      | 187.8     | 93.0      | 187.9     | 93.0      |
| 200                        | 198.0     | 96.5      | 198.0     | 96.5      | 198.0     | 96.5      |

VELOCIDAD =  $\mu$  de H<sup>+</sup> o ATP \* hr<sup>-1</sup> \* mg de chl<sup>-1</sup>  
 ACTIVIDAD = %



- ◆ CAPTACION DE PROTONES H<sup>+</sup>
- ▼ SINTESIS DE ATP
- TRANSPORTE DE ELECTRONES BASAL
- ▲ TRANSPORTE DE ELECTRONES FOSFORILADO
- TRANSPORTE DE ELECTRONES DESACOPLADO

**GRAFICAS DEL EFECTO DE LOS COMPUESTOS EN EL PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DE LAS DIFERENTES FUNCIONES FOTOSINTÉTICAS QUE SE MUESTRAN.**



µM

- CAPTACION DE H<sup>+</sup>
- ▽ SINTESIS DE ATP
- TRANSPORTE DE ELECTRONES BASAL
- ▲ TRANSPORTE DE ELECTRONES FOSFORILADO
- TRANSPORTE DE ELECTRONES DESACOPLADO

µM

GRAFICAS DEL EFECTO DE LOS COMPUESTOS EN LA VELOCIDAD DE LAS DIFERENTES ACTIVIDADES FOTOSINTÉTICAS QUE SE MUESTRAN.

**RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE ATPasa, VARIANDO LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTO.**

$$\text{VELOCIDAD} = \mu\text{M Pi} * \text{mg Chl}^{-1} * \text{h}^{-1}$$

ACTIVIDAD = %

| ATPasa        |                        |     |                         |        |                   |     |        |     |
|---------------|------------------------|-----|-------------------------|--------|-------------------|-----|--------|-----|
| CONC          | [Cu(MBC)(CH3COO)2] H2O |     | [Ni(MBC)(CH3COO)2] 2H2O |        | [Co(MBC)2Cl2]2H2O |     | MBC    |     |
| $\mu\text{M}$ | VEL                    | ACT | VEL                     | ACT    | VEL               | ACT | VEL    | ACT |
| 0             | 105.5                  | 100 | 115.33                  | 100    | 60.72             | 100 | 179.4  | 100 |
| 100           | 156                    | 148 | 146                     | 127    | 63.97             | 105 | 136.29 | 76  |
| 150           | 135                    | 128 | 146.6                   | 127.13 | 112.38            | 185 | 63.38  | 35  |
| 200           | 89.87                  | 85  | 111.79                  | 97     | 50.39             | 83  | 71.94  | 40  |

| ATPasa        |        |       |                    |        |                         |        |                        |        |
|---------------|--------|-------|--------------------|--------|-------------------------|--------|------------------------|--------|
| CONC          | MBC    |       | [Co(MBC)2Cl2] 2H2O |        | [Ni(MBC)(CH3COO)2] 2H2O |        | [Cu(MBC)(CH3COO)2] H2O |        |
| $\mu\text{M}$ | VEL    | ACT   | VEL                | ACT    | VEL                     | ACT    | VEL                    | ACT    |
| 0             | 179.40 | 100   | 60.72              | 100    | 115.33                  | 100    | 124.14                 | 1000   |
| 150           | 203.60 | 113.5 | 112.38             | 185.00 | 146.6                   | 127.00 | 271.54                 | 218.10 |
| 200           | 53.93  | 30    | 50.39              | 83.00  | 111.79                  | 97.00  | 496.54                 | 400.20 |

| ATPasa        |        |     |
|---------------|--------|-----|
| CONC          | FCCP   |     |
| $\mu\text{M}$ | VEL    | ACT |
| 0             | 95     | 100 |
| 11            | 181.76 | 191 |
| 22            | 132.46 | 139 |
| 44            | 172.90 | 182 |

| ATPasa        |        |     |
|---------------|--------|-----|
| CONC          | NH4Cl  |     |
| $\mu\text{M}$ | VEL    | ACT |
| 0             | 94.96  | 100 |
| 0.5           | 297.78 | 313 |
| 1             | 195.04 | 205 |
| 2             | 378.77 | 346 |

**FALTA PAGINA**

No.

102

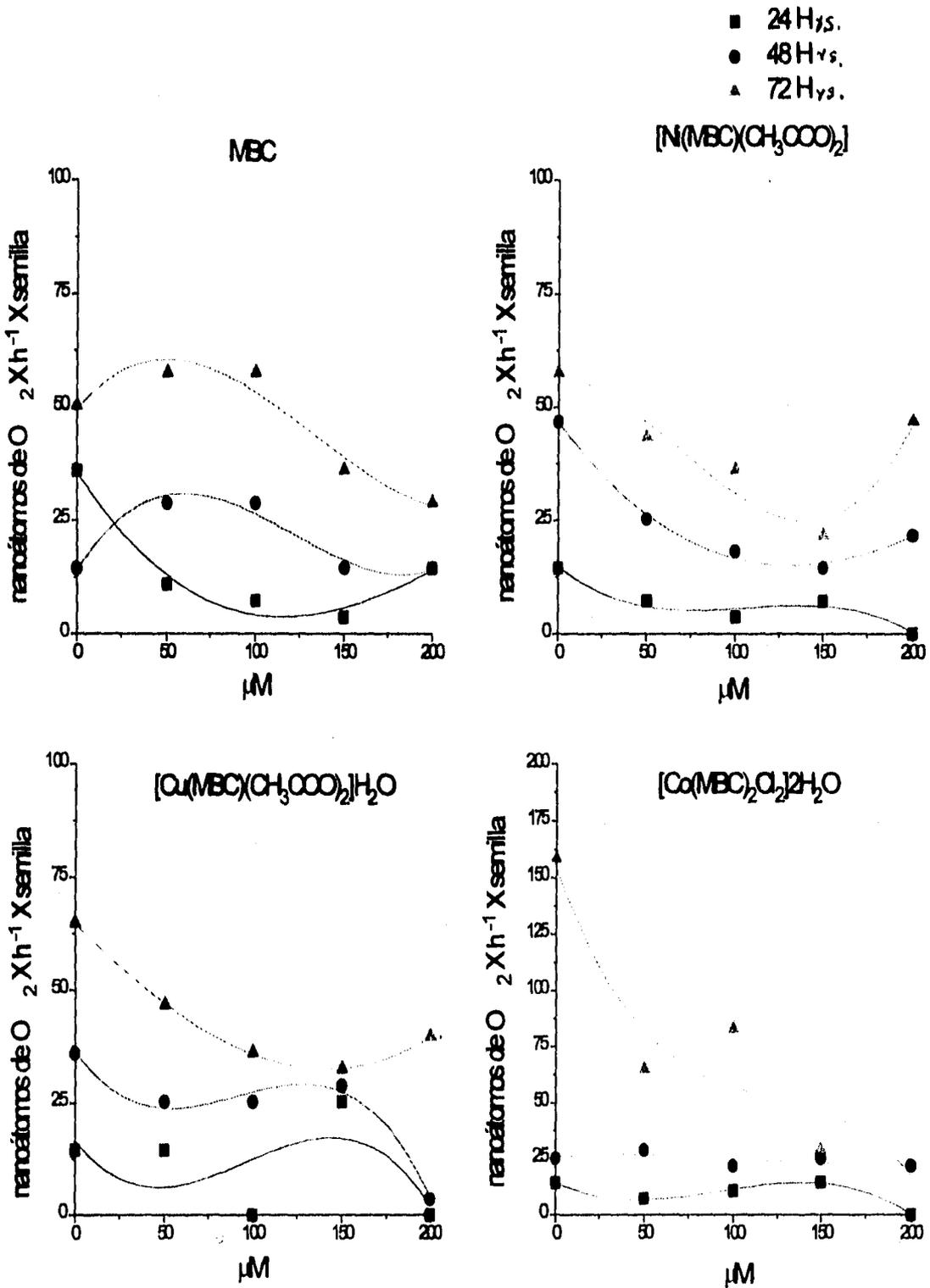
**RESULTADOS DEL EFECTO DEL MBC Y SUS COMPUESTOS SOBRE LA RESPIRACIÓN DE SEMILLAS.**

| EFECTO EN LA RESPIRACION DE <i>Shorgum halepense</i> EN 3 DIAS |                            |      |                           |     |      |     |                     |      |
|--|----------------------------|------|---------------------------|-----|------|-----|---------------------|------|
| CONC<br>µM   | 1o DIA                     |      |                           |     |      |     |                     |      |
|  | [Ni(MBC)(CH3COO)2]<br>2H2O |      | [Cu(MBC)(CH3COO)2]<br>H2O |     | MBC  |     | [Co(MBC)2Cl2]2]2H2O |      |
|  | VEL.                       | ACT  | VEL.                      | ACT | VEL. | ACT | VEL.                | ACT  |
| 0  | 14.4                       | 100  | 14.4                      | 100 | 36   | 100 | 14.4                | 100  |
| 50   | 7.2                        | 50   | 14.4                      | 100 | 10.8 | 30  | 7.2                 | 50   |
| 100  | 3.6                        | 25   | 0                         | 0   | 7.2  | 20  | 10.8                | 75   |
| 150  | 7.2                        | 50   | 25.2                      | 175 | 3.6  | 10  | 14.4                | 100  |
| 200  | 0                          | 0    | 0                         | 0   | 14.4 | 40  | 0                   | 0    |
| CONC   | 2o DIA                     |      |                           |     |      |     |                     |      |
|  | [Ni(MBC)(CH3COO)2]<br>2H2O |      | [Cu(MBC)(CH3COO)2]<br>H2O |     | MBC  |     | [Co(MBC)2Cl2]2]2H2O |      |
|  | VEL.                       | ACT  | VEL.                      | ACT | VEL. | ACT | VEL.                | ACT  |
| 0  | 46.8                       | 100  | 36                        | 100 | 14.4 | 100 | 25.2                | 100  |
| 50   | 25.2                       | 53   | 25.2                      | 70  | 28.8 | 200 | 28.8                | 114  |
| 100  | 18                         | 38   | 25.2                      | 70  | 28.8 | 200 | 21.6                | 86   |
| 150  | 14.4                       | 31   | 28.8                      | 80  | 14.4 | 100 | 25.2                | 100  |
| 200  | 21.6                       | 46   | 3.6                       | 10  | 14.4 | 100 | 21.6                | 86   |
| CONC   | 3o DIA                     |      |                           |     |      |     |                     |      |
|  | [Ni(MBC)(CH3COO)2]<br>2H2O |      | [Cu(MBC)(CH3COO)2]<br>H2O |     | MBC  |     | [Co(MBC)2Cl2]2]2H2O |      |
|  | VEL.                       | ACT  | VEL.                      | ACT | VEL. | ACT | VEL.                | ACT  |
| 0  | 57.6                       | 100  | 64.8                      | 100 | 50.4 | 100 | 158.1               | 100  |
| 50   | 43.2                       | 75   | 46.8                      | 72  | 57.6 | 114 | 64.8                | 41   |
| 100  | 36                         | 62.5 | 36                        | 55  | 57.6 | 114 | 82.8                | 52   |
| 150  | 21.6                       | 37.5 | 32.4                      | 50  | 36   | 71  | 28.8                | 18   |
| 200  | 46.8                       | 81   | 39.6                      | 61  | 28.8 | 57  | 21.6                | 13.6 |

| EFECTO EN LA RESPIRACION DE <i>Shorgum halepense</i> EN 3 DIAS |                            |      |                           |     |      |     |                     |      |
|--|----------------------------|------|---------------------------|-----|------|-----|---------------------|------|
| CONC<br>µM   | 1o DIA                     |      |                           |     |      |     |                     |      |
|  | [Ni(MBC)(CH3COO)2]<br>2H2O |      | [Cu(MBC)(CH3COO)2]<br>H2O |     | MBC  |     | [Co(MBC)2Cl2]2]2H2O |      |
|  | VEL.                       | ACT  | VEL.                      | ACT | VEL. | ACT | VEL.                | ACT  |
| 0  | 14.2                       | 100  | 14.3                      | 100 | 35   | 100 | 14.2                | 100  |
| 50   | 7.1                        | 50   | 14.4                      | 100 | 10.7 | 30  | 7.1                 | 50   |
| 100  | 3.5                        | 25   | 14.3                      | 100 | 7.1  | 20  | 10.7                | 75   |
| 150  | 7.1                        | 50   | 25.2                      | 174 | 3.5  | 10  | 14.3                | 100  |
| 200  | 7.1                        | 50   | 14.3                      | 100 | 14.3 | 40  | 10.4                | 61.6 |
| CONC   | 2o DIA                     |      |                           |     |      |     |                     |      |
|  | [Ni(MBC)(CH3COO)2]<br>2H2O |      | [Cu(MBC)(CH3COO)2]<br>H2O |     | MBC  |     | [Co(MBC)2Cl2]2]2H2O |      |
|  | VEL.                       | ACT  | VEL.                      | ACT | VEL. | ACT | VEL.                | ACT  |
| 0  | 46.7                       | 100  | 35                        | 100 | 14.3 | 100 | 25.1                | 100  |
| 50   | 25.1                       | 53   | 25.1                      | 70  | 28.7 | 200 | 28.7                | 114  |
| 100  | 17                         | 38   | 25.1                      | 70  | 28.7 | 200 | 21.5                | 86   |
| 150  | 14.3                       | 31   | 28.7                      | 80  | 14.3 | 100 | 25.1                | 100  |
| 200  | 21.5                       | 46   | 3.4                       | 10  | 14.2 | 100 | 21.5                | 86   |
| CONC   | 3o DIA                     |      |                           |     |      |     |                     |      |
|  | [Ni(MBC)(CH3COO)2]<br>2H2O |      | [Cu(MBC)(CH3COO)2]<br>H2O |     | MBC  |     | [Co(MBC)2Cl2]2]2H2O |      |
|  | VEL.                       | ACT  | VEL.                      | ACT | VEL. | ACT | VEL.                | ACT  |
| 0  | 57.5                       | 100  | 64.7                      | 100 | 50.3 | 100 | 158.1               | 100  |
| 50   | 43.1                       | 75   | 46.6                      | 72  | 57.5 | 114 | 64.7                | 41   |
| 100  | 36                         | 62.5 | 36                        | 55  | 57.5 | 114 | 82.7                | 52   |
| 150  | 21.5                       | 37.5 | 32.3                      | 50  | 35   | 71  | 28.6                | 18   |
| 200  | 46.7                       | 81   | 39.5                      | 61  | 28.7 | 57  | 21.5                | 13.6 |

VELOCIDAD: nanoátomos de O<sub>2</sub> · hr<sup>-1</sup>

ACTIVIDAD: %



EFFECTO EN LA RESPIRACION DE *Shor gum halepense* DURANTE 3 DIAS A 28°C

GRAFICAS DEL EFECTO DE LOS COMPUESTOS EN LA VELOCIDAD DE LA RESPIRACION DE LAS SEMILLAS QUE SE MUESTRAN DURANTE 72 HORAS.

EFFECTO EN LA RESPIRACION DE *Shorgum halepense* EN 3 DIAS

| CONC<br>μM | 1o DIA   |      |   |     |      |     |   |      |
|------------|--|------|---|-----|------|-----|---|------|
|            | [Ni(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ] 2H <sub>2</sub> O |      | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ] H <sub>2</sub> O |     | MBC  |     | [Co(MBC) <sub>2</sub> C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O |      |
|            | VEL  | ACT  | VEL   | ACT | VEL  | ACT | VEL   | ACT  |
| 0          | 14.4   | 100  | 14.4  | 100 | 36   | 100 | 14.4  | 100  |
| 50         | 7.2  | 50   | 14.4  | 100 | 10.8 | 30  | 7.2   | 50   |
| 100        | 3.6  | 25   | 0   | 0   | 7.2  | 20  | 10.8  | 75   |
| 150        | 7.2  | 50   | 25.2  | 175 | 3.6  | 10  | 14.4  | 100  |
| 200        | 0  | 0    | 0   | 0   | 14.4 | 40  | 0   | 0    |
| CONC       | 2o DIA   |      |   |     |      |     |   |      |
|            | [Ni(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ] 2H <sub>2</sub> O |      | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ] H <sub>2</sub> O |     | MBC  |     | [Co(MBC) <sub>2</sub> C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O |      |
|            | VEL  | ACT  | VEL   | ACT | VEL  | ACT | VEL   | ACT  |
| 0          | 46.8   | 100  | 36  | 100 | 14.4 | 100 | 25.2  | 100  |
| 50         | 25.2   | 53   | 25.2  | 70  | 28.8 | 200 | 28.8  | 114  |
| 100        | 18   | 38   | 25.2  | 70  | 28.8 | 200 | 21.6  | 86   |
| 150        | 14.4   | 31   | 28.8  | 80  | 14.4 | 100 | 25.2  | 100  |
| 200        | 21.6   | 46   | 3.6   | 10  | 14.4 | 100 | 21.6  | 86   |
| CONC       | 3o DIA   |      |   |     |      |     |   |      |
|            | [Ni(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ] 2H <sub>2</sub> O |      | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ] H <sub>2</sub> O |     | MBC  |     | [Co(MBC) <sub>2</sub> C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O |      |
|            | VEL  | ACT  | VEL   | ACT | VEL  | ACT | VEL   | ACT  |
| 0          | 57.6   | 100  | 64.8  | 100 | 50.4 | 100 | 158.4   | 100  |
| 50         | 43.2   | 75   | 46.8  | 72  | 57.6 | 114 | 64.8  | 41   |
| 100        | 36   | 62.5 | 36  | 55  | 57.6 | 114 | 82.8  | 52   |
| 150        | 21.6   | 37.5 | 32.4  | 50  | 36   | 71  | 28.8  | 18   |
| 200        | 46.8   | 81   | 39.6  | 61  | 28.8 | 57  | 21.6  | 13.6 |

VELOCIDAD: nanoátomos de O<sub>2</sub> · hr<sup>-1</sup>

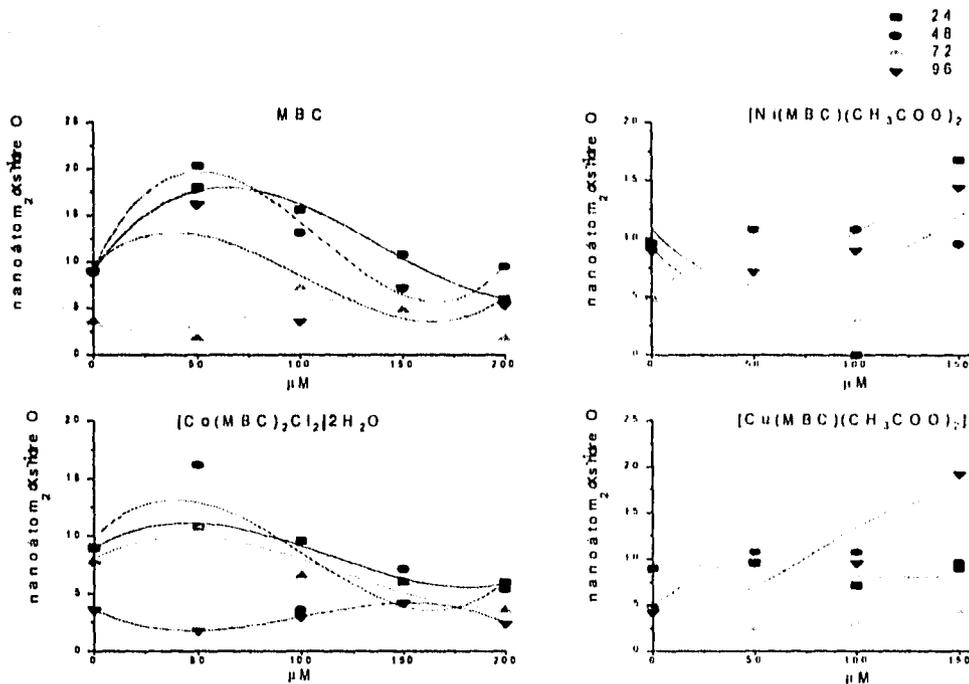
ACTIVIDAD: %

**Resultados del efecto de los compuestos en concentraciones 0, 50, 100, 150 y 200  $\mu$ M, sobre la respiración de semillas de *Shorgum halepense*, los días I; II y III. En % de inhibición con relación al control (100% de respiración= 0% de inhibición) con media y desviación estándar.**

| compuesto | 1    | 2    | 3    | Media    | d estándar | error estándar |
|-----------|------|------|------|----------|------------|----------------|
| NiI0      | 14.4 | 14.2 | 14.4 | 14.33333 | 0.11547    | 0.06667        |
| NiI50     | 7.2  | 7.4  | 7.2  | 7.26667  | 0.11547    | 0.06667        |
| NiI100    | 3.6  | 3.5  | 3.6  | 3.56667  | 0.05774    | 0.03333        |
| NiI150    | 7.2  | 7.1  | 7.2  | 7.16667  | 0.05774    | 0.03333        |
| NiI200    | 0    | 7.1  | 0    | 2.36667  | 4.09919    | 2.36667        |
| NiII0     | 46.8 | 46.7 | 46.8 | 46.76667 | 0.05774    | 0.03333        |
| NiII50    | 25.2 | 25.1 | 25.2 | 25.16667 | 0.05774    | 0.03333        |
| NiII100   | 18   | 17   | 18   | 17.66667 | 0.57735    | 0.33333        |
| NiII150   | 14.4 | 14.3 | 14.4 | 14.36667 | 0.05774    | 0.03333        |
| NiII200   | 21.6 | 21.5 | 21.6 | 21.56667 | 0.05774    | 0.03333        |
| NiIII0    | 57.6 | 57.5 | 57.6 | 57.56667 | 0.05774    | 0.03333        |
| NiIII50   | 43.2 | 43.1 | 43.2 | 43.16667 | 0.05774    | 0.03333        |
| NiIII100  | 36   | 36   | 36   | 36       | 0          | 0              |
| NiIII150  | 21.6 | 21.5 | 21.6 | 21.56667 | 0.05774    | 0.03333        |
| NiIII200  | 46.8 | 46.7 | 46.8 | 46.76667 | 0.05774    | 0.03333        |
| CuI0      | 14.4 | 14.3 | 14.4 | 14.36667 | 0.05774    | 0.03333        |
| CuI50     | 14.4 | 14.4 | 14.4 | 14.4     | 7.15605E-8 | 4.13155        |
| CuI100    | 0    | 14.3 | 0    | 4.76667  | 8.25611    | 4.76667        |
| CuI150    | 25.2 | 25.2 | 25.2 | 25.2 0   | 0          | 0.00000        |
| CuI200    | 0    | 14.3 | 0    | 4.76667  | 8.25611    | 4.76667        |
| CuII0     | 36   | 35   | 36   | 35.66667 | 0.57735    | 0.33333        |
| CuII50    | 25.2 | 25.1 | 25.2 | 25.16667 | 0.05774    | 0.03333        |
| CuII100   | 25.2 | 25.1 | 25.2 | 25.16667 | 0.05774    | 0.03333        |
| CuII150   | 28.8 | 28.7 | 28.8 | 28.76667 | 0.05774    | 0.03333        |
| CuII200   | 3.6  | 3.4  | 3.6  | 3.53333  | 0.11547    | 0.06667        |
| CuIII0    | 64.8 | 64.7 | 64.8 | 64.76667 | 0.05774    | 0.03333        |
| CuIII50   | 46.8 | 46.6 | 46.8 | 46.73333 | 0.11547    | 0.06667        |
| CuIII100  | 36   | 36   | 36   | 36       | 0          | 0              |
| CuIII150  | 32.4 | 32.3 | 32.4 | 32.36667 | 0.05774    | 0.03333        |

EFFECTO EN LA RESPIRACION DE *Physalis ixocarpa* EN 4 DIAS

| CONC<br>$\mu\text{M}$ | 24 HORAS |     |   |      | 48 HORAS |     |   |     |
|-----------------------|----------|-----|---|------|----------|-----|---|-----|
|                       | MBC      |     | [Ni(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>2H <sub>2</sub> O |      | MBC      |     | [Ni(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>2H <sub>2</sub> O |     |
|                       | VEL      | ACT | VEL   | ACT  | VEL      | ACT | VEL   | ACT |
| 0                     | 9        | 100 | 9.6   | 100  | 9        | 100 | 4.8   | 100 |
| 50                    | 18       | 200 | 10.8  | 112  | 20.4     | 226 | 10.8  | 225 |
| 100                   | 15.6     | 173 | 0   | 0    | 13.2     | 146 | 10.8  | 225 |
| 150                   | 10.8     | 120 | 16.8  | 175  | 7.2      | 80  | 9.6   | 200 |
| 200                   | 6        | 66  | 15.6  | 162  | 9.6      | 106 | 6   | 125 |
|                       | 72 HORAS |     |   |      | 96 HORAS |     |   |     |
|                       | MBC      |     | [Ni(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>2H <sub>2</sub> O |      | MBC      |     | [Ni(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>2H <sub>2</sub> O |     |
|                       |          |     |   |      | 9        | 100 | 9   | 100 |
| 0                     | 3.6      | 100 | 4.8   | 100  | 16.2     | 180 | 7.2   | 80  |
| 50                    | 1.8      | 50  | 2.4   | 50   | 3.6      | 40  | 9   | 100 |
| 100                   | 7.2      | 200 | 3   | 62.5 | 7.2      | 125 | 14.4  | 160 |
| 150                   | 4.8      | 133 | 4.2   | 87.5 | 5.4      | 60  | 5.4   | 60  |
| 200                   | 1.8      | 50  | 2.4   | 50   |          |     |   |     |



EFFECTO EN LA RESPIRACION DE 300 SEMILLAS DE *Physalis ixocarpa* DURANTE 96 Hrs A 28°C

GRAFICAS DEL EFECTO DE LOS COMPUESTOS EN LA VELOCIDAD DE LA RESPIRACION DE LAS SEMILLAS QUE SE MUESTRAN DURANTE 96 HORAS.

EFFECTO EN LA RESPIRACION DE *Physalis ixocarpa* EN 96 HORAS

|   | 24 HORAS  |  |  |   | 48 HORAS  |  |  |     |
|---|---|--|--|---|---|--|--|-----|
|   | [Co(MBC) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O |  | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>H <sub>2</sub> O |   | [Co(MBC) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O |  | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>H <sub>2</sub> O |     |
|   | VEL   | ACT  | VEL  | ACT   | VEL   | ACT  | VEL  | ACT |
| 0   | 9   | 100  | 9.0  | 100   | 9   | 100  | 4.8  | 100 |
| 50  | 10.8  | 120.0  | 9.6  | 106   | 16.2  | 180  | 10.8   | 225 |
| 100   | 9.6   | 106.0  | 7.2  | 80  | 3.6   | 40   | 10.8   | 225 |
| 150   | 6.0   | 66.0   | 9.0  | 100   | 7.2   | 125  | 9.6  | 200 |
| 200   | 6.0   | 66.0   | 10.8   | 120   | 5.4   | 60   | 6  | 125 |
| 72 HORAS  |   |  |  | 96 HORAS  |   |  |  |     |
| [Co(MBC) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O |   | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>H <sub>2</sub> O |  | [Co(MBC) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O |   | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>H <sub>2</sub> O |  |     |
| 0   | 7.8   | 100  | 4.8  | 100   | 3.6   | 100  | 4.2  | 100 |
| 50  | 10.8  | 138.0  | 2.4  | 50  | 1.8   | 50.0   | 9.6  | 228 |
| 100   | 6.6   | 84.5   | 3  | 62.5  | 3.0   | 62.5   | 9.6  | 228 |
| 150   | 6.0   | 77.0   | 4.2  | 87.5  | 4.2   | 87.5   | 19.2   | 457 |
| 200   | 3.6   | 46.0   | 2.4  | 50  | 2.4   | 50.0   | 8.4  | 200 |
| TOMATE 24 HORAS   |   |  |  | 48 HORAS  |   |  |  |     |
| [Co(MBC) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O |   | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>H <sub>2</sub> O |  | [Co(MBC) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O |   | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>H <sub>2</sub> O |  |     |
| 0   | 10  | 100  | 8.5  | 100   | 8.9   | 100  | 4.6  | 100 |
| 50  | 10.7  | 120.0  | 9.6  | 106   | 16.1  | 180  | 10.7   | 225 |
| 100   | 9.5   | 106.0  | 7.1  | 80  | 3.5   | 40   | 10.6   | 225 |
| 150   | 5.8   | 66.0   | 8.9  | 100   | 7.1   | 125  | 9.4  | 200 |
| 200   | 5.9   | 66.0   | 10.7   | 120   | 5.3   | 60   | 5  | 125 |
| 72 HORAS  |   |  |  | 96 HORAS  |   |  |  |     |
| [Co(MBC) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O |   | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>H <sub>2</sub> O |  | [Co(MBC) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O |   | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ]<br>H <sub>2</sub> O |  |     |
| 0   | 7.8   | 100  | 4.8  | 100   | 3.5   | 100  | 4.4  | 100 |
| 50  | 10.8  | 138.0  | 2.4  | 50  | 1.7   | 50.0   | 9.3  | 228 |
| 100   | 6.6   | 84.5   | 3  | 62.5  | 2.6   | 62.5   | 9.5  | 228 |
| 150   | 6.0   | 77.0   | 4.2  | 87.5  | 4.0   | 87.5   | 19.3   | 457 |
| 200   | 3.6   | 46.0   | 2.4  | 50  | 2.1   | 50.0   | 8.3  | 200 |

VELOCIDAD: nanoátomos de O<sub>2</sub> · hr<sup>-1</sup>

ACTIVIDAD: %

**Resultados del efecto de los compuestos en concentraciones 0, 50, 100, 150 y 200  $\mu$ M, sobre la respiración de semillas de *Physalis ixocarpa*, los días I; II y III. En % de inhibición con relación al control (100% de respiración= 0% de inhibición) con media y desviación estándar.**

| compuesto | 1    | 2    | 3    | Media | d estándar | e. estándar |
|-----------|------|------|------|-------|------------|-------------|
| NiII150   | 9.5  | 9.6  | 9.7  | 9.6   | 0.1        | 0.05774     |
| NiII200   | 6.9  | 6    | 5.1  | 6     | 0.9        | 0.51962     |
| NiIII0    | 4.4  | 4.8  | 5.2  | 4.8   | 0.4        | 0.23094     |
| NiIII50   | 2.7  | 2.4  | 2.1  | 2.4   | 0.3        | 0.17321     |
| NiIII100  | 3.3  | 3    | 2.7  | 3     | 0.3        | 0.17321     |
| NiIII150  | 5    | 4.2  | 3.4  | 4.2   | 0.8        | 0.46188     |
| NiIII200  | 2.7  | 2.4  | 2.1  | 2.4   | 0.3        | 0.17321     |
| CuI0      | 8.7  | 9    | 9.3  | 9     | 0.3        | 0.17321     |
| CuI50     | 10.1 | 9.6  | 9.1  | 9.6   | 0.5        | 0.28868     |
| CuI100    | 6.4  | 7.2  | 8    | 7.2   | 0.8        | 0.46188     |
| CuI150    | 8.7  | 9    | 9.3  | 9     | 0.3        | 0.17321     |
| CuI200    | 12   | 10.8 | 9.6  | 10.8  | 1.2        | 0.69282     |
| CuII0     | 4.6  | 4.8  | 5    | 4.8   | 0.2        | 0.11547     |
| CuII50    | 11.3 | 10.8 | 10.3 | 10.8  | 0.5        | 0.28868     |
| CuII100   | 12.3 | 10.8 | 9.3  | 10.8  | 1.5        | 0.86603     |
| CuII150   | 10.2 | 9.6  | 9    | 9.6   | 0.6        | 0.34641     |
| CuII200   | 7.1  | 6    | 4.9  | 6     | 1.1        | 0.63509     |
| CuIII0 5  | 4.8  | 4.6  | 4.8  | 0.2   | 0.11547    |             |
| CuIII50   | 3    | 2.4  | 1.8  | 2.4   | 0.6        | 0.34641     |
| CuIII100  | 2.9  | 3    | 3.1  | 3     | 0.1        | 0.05774     |
| CuIII150  | 6    | 4.2  | 3.8  | 4.6   | 1.17       | 0.67659     |
| CuIII200  | 2    | 2.4  | 2.8  | 2.4   | 0.4        | 0.23094     |
| MBCI0     | 9.7  | 9    | 8.3  | 9     | 0.7        | 0.40415     |
| MBCI50    | 18.6 | 18   | 17.4 | 18    | 0.6        | 0.34641     |
| MBCI100   | 16.1 | 15.6 | 15.1 | 15.6  | 0.5        | 0.28868     |

| compuesto | 1    | 2    | 3    | Media | d estándar | e.estándar |
|-----------|------|------|------|-------|------------|------------|
| MBCI150   | 10.4 | 10.8 | 11.2 | 10.8  | 0.4        | 0.23094    |
| MBCI200   | 5.1  | 6    | 6.9  | 6     | 0.9        | 0.51962    |
| MBCII0    | 9.4  | 9    | 8.6  | 9     | 0.4        | 0.23094    |
| MBCII50   | 21.4 | 20.4 | 19.4 | 20.4  | 1          | 0.57735    |
| MBCII100  | 13.6 | 13.2 | 12.8 | 13.2  | 0.4        | 0.23094    |
| MBCII150  | 7.9  | 7.2  | 6.5  | 7.2   | 0.7        | 0.40415    |
| MBCII200  | 10.3 | 9.6  | 8.9  | 9.6   | 0.7        | 0.40415    |
| MBCIII0   | 4    | 3.6  | 3.2  | 3.6   | 0.4        | 0.23094    |
| MBCIII50  | 2    | 1.8  | 1.6  | 1.8   | 0.2        | 0.11547    |
| MBCIII100 | 6.4  | 7.2  | 8    | 7.2   | 0.8        | 0.46188    |
| MBCIII150 | 4.6  | 4.8  | 5    | 4.8   | 0.2        | 0.11547    |
| MBCIII200 | 2.1  | 1.8  | 1.5  | 1.8   | 0.3        | 0.17321    |
| Col0      | 10.2 | 9    | 7.8  | 9     | 1.2        | 0.69282    |
| Col50     | 11.3 | 10.8 | 10.3 | 10.8  | 0.5        | 0.28868    |
| Col100    | 10.4 | 9.6  | 8.8  | 9.6   | 0.8        | 0.46188    |
| Col150    | 7.2  | 6    | 4.8  | 6     | 1.2        | 0.69282    |
| Col200    | 5.8  | 6    | 6.2  | 6     | 0.2        | 0.11547    |
| ColI0     | 10.4 | 9    | 7.6  | 9     | 1.4        | 0.80829    |
| ColI50    | 17.4 | 16.2 | 15   | 16.2  | 1.2        | 0.69282    |
| ColI100   | 3.2  | 3.6  | 4    | 3.6   | 0.4        | 0.23094    |
| ColI150   | 4    | 7.2  | 8    | 6.4   | 2.1166     | 1.22202    |
| ColI200   | 6    | 5.4  | 4.8  | 5.4   | 0.6        | 0.34641    |
| ColII0    | 7.6  | 7.8  | 8    | 7.8   | 0.2        | 0.11547    |
| ColII50   | 11.2 | 10.8 | 10.4 | 10.8  | 0.4        | 0.23094    |
| ColII100  | 6.1  | 6.6  | 7.1  | 6.6   | 0.5        | 0.28868    |
| ColII150  | 5.7  | 6    | 6.3  | 6     | 0.3        | 0.17321    |
| ColII200  | 4    | 3.6  | 3.2  | 3.6   | 0.4        | 0.23094    |

EFFECTO EN LA RESPIRACION DE *Triticum vulgare* EN 72 HORAS a 28 °

C

| CONC<br>μM | 24 HORAS |     |  |     |  |     |   |     |
|------------|----------|-----|--|-----|--|-----|---|-----|
|            | MBC      |     | [Ni(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O |     | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O |     | [Co(MBC) <sub>2</sub> C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O |     |
|            | VEL      | ACT | VEL  | ACT | VEL  | ACT | VEL   | ACT |
| 0          | 27       | 100 | 27   | 100 | 27   | 100 | 27  | 100 |
| 150        | 18       | 66  | 18   | 66  | 9  | 33  | 45  | 166 |
| 200        | 18       | 66  | 18   | 66  | 27   | 100 | 36  | 133 |
|            | 48 HORAS |     |  |     |  |     |   |     |
| 0          | 108      | 100 | 108  | 100 | 108  | 100 | 108   | 100 |
| 150        | 252      | 233 | 288  | 266 | 216  | 200 | 126   | 116 |
| 200        | 198      | 183 | 198  | 183 | 180  | 166 | 135   | 125 |
|            | 72 HORAS |     |  |     |  |     |   |     |
| 0          | 54       | 100 | 54   | 100 | 54   | 100 | 54  | 100 |
| 150        | 144      | 266 | 36   | 66  | 360  | 666 | 180   | 333 |
| 200        | 36       | 66  | 72   | 133 | 306  | 80  | 72  | 133 |

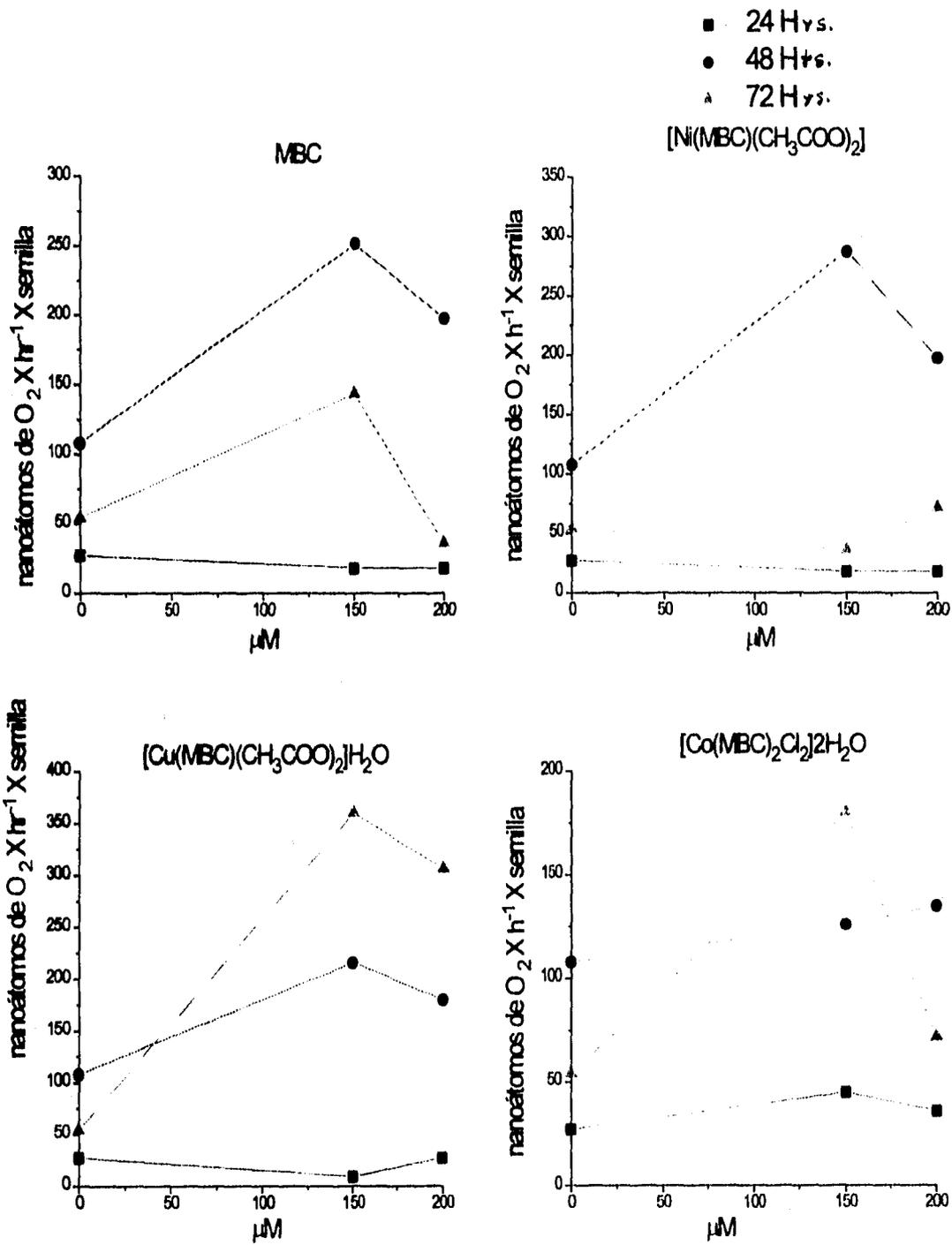
EFFECTO EN LA RESPIRACION DE *Triticum vulgare* EN 72 HORAS a 28 °

C

| CONC<br>μM | 24 HORAS |     |  |     |  |     |   |     |
|------------|----------|-----|--|-----|--|-----|---|-----|
|            | MBC      |     | [Ni(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O |     | [Cu(MBC)(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O |     | [Co(MBC) <sub>2</sub> C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O |     |
|            | VEL      | ACT | VEL  | ACT | VEL  | ACT | VEL   | ACT |
| 0          | 26       | 100 | 26   | 100 | 26   | 100 | 26  | 100 |
| 150        | 17       | 66  | 17   | 66  | 8  | 33  | 44  | 166 |
| 200        | 18       | 66  | 17   | 66  | 26   | 100 | 35  | 133 |
|            | 48 HORAS |     |  |     |  |     |   |     |
| 0          | 106      | 100 | 106  | 100 | 107  | 100 | 107   | 100 |
| 150        | 251      | 233 | 287  | 266 | 215  | 200 | 126   | 116 |
| 200        | 197      | 183 | 197  | 183 | 178  | 166 | 134   | 125 |
|            | 72 HORAS |     |  |     |  |     |   |     |
| 0          | 53       | 100 | 53   | 100 | 52   | 100 | 53  | 100 |
| 150        | 142      | 266 | 35   | 66  | 359  | 666 | 179   | 333 |
| 200        | 34       | 66  | 71   | 133 | 305  | 80  | 70  | 133 |

VELOCIDAD: nanoátomos de O<sub>2</sub> . hr<sup>-1</sup>

ACTIVIDAD: %



EFFECTO EN LA RESPIRACION DE *Triticum vulgare* DURANTE 3 DIAS A 28°C

**Resultados del efecto de los compuestos en concentraciones 0, 50, 100, 150 y 200  $\mu$ M, sobre la respiración de semillas de *Triticum vulgare*, los días I; II y III. En % de inhibición con relación al control (100% de respiración= 0% de inhibición) con media y desviación estándar.**

| compuesto | 1     | 2   | 3     | Media | d estand | error estándar |
|-----------|-------|-----|-------|-------|----------|----------------|
| MBCI0 31  | 27    | 23  | 27    | 4     | 1        | 2.3094         |
| MBCI150   | 18.5  | 18  | 17.5  | 18    | 0.5      | 0.28868        |
| MBCI200   | 17    | 18  | 19    | 18    | 1        | 0.57735        |
| MBCII0    | 111.2 | 108 | 104.8 | 108   | 3.2      | 1.84752        |
| MBCII150  | 238   | 252 | 266   | 252   | 14       | 8.0829         |
| MBCII200  | 193   | 198 | 203   | 198   | 5        | 2.88675        |
| MBCIII0   | 60    | 54  | 48    | 54    | 6        | 3.4641         |
| MBCIII150 | 152   | 144 | 136   | 144   | 8        | 4.6188         |
| MBCIII200 | 32    | 36  | 40    | 36    | 4        | 2.3094         |
| NiI0      | 30    | 27  | 24    | 27    | 3        | 1.73205        |
| NiI150    | 18.7  | 18  | 17.3  | 18    | 0.7      | 0.40415        |
| NiI200    | 18.4  | 18  | 17.6  | 18    | 0.4      | 0.23094        |
| NiII0     | 117   | 108 | 99    | 108   | 9        | 5.19615        |
| NiII150   | 291.1 | 288 | 284.9 | 288   | 3.1      | 1.78979        |
| NiII200   | 208.9 | 198 | 187.1 | 198   | 10.9     | 6.29312        |
| NiIII0    | 53.4  | 54  | 54.6  | 54    | 0.6      | 0.34641        |
| NiIII150  | 37.6  | 36  | 34.4  | 36    | 1.6      | 0.92376        |
| NiIII200  | 69.4  | 72  | 74.6  | 72    | 2.6      | 1.50111        |
| CuI0      | 26.8  | 27  | 27.2  | 27    | 0.2      | 0.11547        |
| CuI150    | 9.4   | 9   | 8.6   | 9     | 0.4      | 0.23094        |
| CuI200    | 31.1  | 27  | 22.9  | 27    | 4.1      | 2.36714        |
| CuII0     | 99    | 108 | 117   | 108   | 9        | 5.19615        |
| CuII150   | 211.4 | 216 | 220.6 | 216   | 4.6      | 2.65581        |
| CuII200   | 174.2 | 180 | 185.8 | 180   | 5.8      | 3.34863        |
| CuIII0    | 53.9  | 54  | 54.1  | 54    | 0.1      | 0.05774        |

EFFECTO EN LA RESPIRACION DE *Cassia obtusifolia* EN 24 HORAS

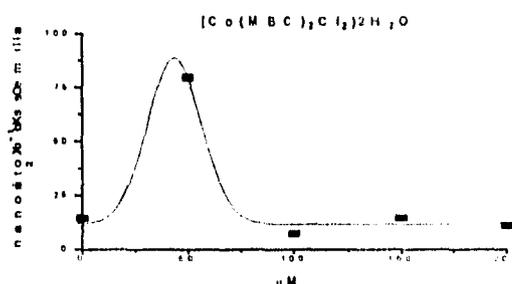
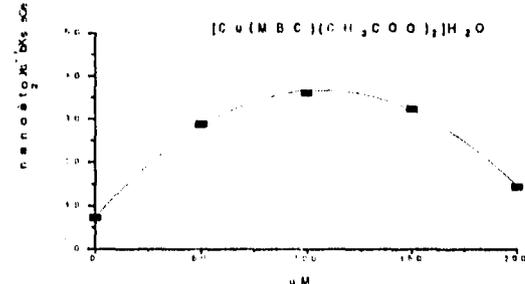
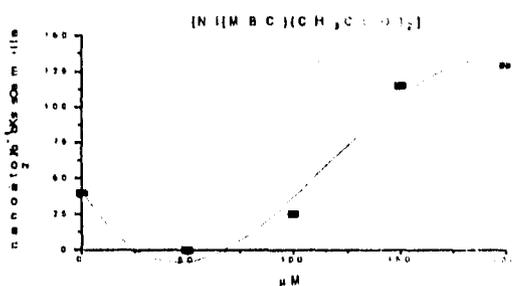
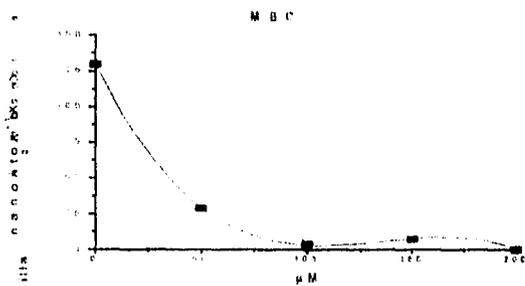
| CNC | MBC   |     | $[Ni(MBC)(CH_3COO)_2] \cdot 2H_2O$ |      | $[Cu(MBC)(CH_3COO)_2]$ |     | $[Co(MBC)_2Cl_2] \cdot 2H_2O$ |     |
|-----|-------|-----|------------------------------------|------|------------------------|-----|-------------------------------|-----|
|     | VEL   | ACT | VEL                                | ACT  | VEL                    | ACT | VEL                           | ACT |
| 0   | 129.6 | 100 | 39.6                               | 100  | 7.2                    | 100 | 14.4                          | 100 |
| 50  | 28.8  | 22  | 0                                  | 0    | 28.8                   | 400 | 79.2                          | 550 |
| 100 | 3.6   | 2.7 | 25.2                               | 63.5 | 36                     | 500 | 7.2                           | 50  |
| 150 | 7.2   | 5.5 | 115                                | 290  | 32.4                   | 450 | 14.4                          | 100 |
| 200 | 0     | 0   | 129                                | 327  | 14.4                   | 200 | 10.8                          | 750 |

EFFECTO EN LA RESPIRACION DE *Cassia obtusifolia* EN 24 HORAS

| CNC | MBC   |     | $[Ni(MBC)(CH_3COO)_2] \cdot 2H_2O$ |      | $[Cu(MBC)(CH_3COO)_2]$ |     | $[Co(MBC)_2Cl_2] \cdot 2H_2O$ |     |
|-----|-------|-----|------------------------------------|------|------------------------|-----|-------------------------------|-----|
|     | VEL   | ACT | VEL                                | ACT  | VEL                    | ACT | VEL                           | ACT |
| 0   | 129.6 | 100 | 39.4                               | 100  | 7.2                    | 100 | 14.4                          | 100 |
| 50  | 28.8  | 22  | 5.30                               | 11.0 | 28.6                   | 400 | 79.0                          | 550 |
| 100 | 3.4   | 2.5 | 25.0                               | 63.4 | 36                     | 500 | 7.3                           | 50  |
| 150 | 7.1   | 5.5 | 115                                | 290  | 32.4                   | 450 | 14.4                          | 100 |
| 200 | 2.0   | 2.6 | 129                                | 327  | 14.2                   | 200 | 10.8                          | 750 |

EFFECTO EN LA RESPIRACION DE *Cassia obtusifolia* EN 24 HORAS

| CNC | MBC   |     | $[Ni(MBC)(CH_3COO)_2] \cdot 2H_2O$ |      | $[Cu(MBC)(CH_3COO)_2]$ |     | $[Co(MBC)_2Cl_2] \cdot 2H_2O$ |     |
|-----|-------|-----|------------------------------------|------|------------------------|-----|-------------------------------|-----|
|     | VEL   | ACT | VEL                                | ACT  | VEL                    | ACT | VEL                           | ACT |
| 0   | 129.5 | 100 | 39.5                               | 100  | 7.0                    | 100 | 14.3                          | 100 |
| 50  | 26.8  | 21  | 20.0                               | 50.6 | 28.4                   | 400 | 79.0                          | 550 |
| 100 | 3.5   | 2.7 | 25.1                               | 63.5 | 36                     | 500 | 7.1                           | 50  |
| 150 | 7.1   | 5.5 | 114                                | 290  | 32.2                   | 450 | 14.3                          | 100 |
| 200 | 3.4   | 2.1 | 128                                | 327  | 14.3                   | 200 | 10.7                          | 750 |



**Resultados del efecto de los compuestos en concentraciones 0, 50, 100, 150 y 200  $\mu$ M, sobre la respiración de semillas de *Cassia obtusifolia*. En % de inhibición con relación al control (100% de respiración= 0% de inhibición) con media y desviación estándar.**

| compuesto | 1    | 2     | 3     | Media | d estand | error estándar |
|-----------|------|-------|-------|-------|----------|----------------|
| MBC0      | 28.2 | 129.6 | 131   | 129.6 | 1.4      | 0.80829        |
| MBC50     | 30.2 | 28.8  | 27.4  | 28.8  | 1.4      | 0.80829        |
| MBC100    | 3.2  | 3.6   | 4     | 3.6   | 0.4      | 0.23094        |
| MBC150    | 8    | 7.2   | 6.4   | 7.2   | 0.8      | 0.46188        |
| MBC200    | 0    | 0     | 0     | 0     | 0.4      | 0              |
| Ni0       | 7.9  | 39.6  | 41.3  | 39.6  | 1.7      | 0.9815         |
| Ni50      |      | 0     | 0     | 0     | 0.3      | 0              |
| Ni100     | 5.5  | 25.2  | 24.9  | 25.2  | 0.8      | 0.17321        |
| Ni150     | 15.4 | 115   | 114.6 | 115   | 1        | 0.23094        |
| Ni200     | 27   | 129   | 131   | 129   | 2        | 1.1547         |
| Cu0       | .6   | 7.2   | 6.8   | 7.2   | 0.4      | 0.23094        |
| Cu50      | 8.3  | 28.8  | 29.3  | 28.8  | 0.5      | 0.28868        |
| Cu100     | 7.1  | 36    | 34.9  | 36    | 1.1      | 0.63509        |
| Cu150     | 1.8  | 32.4  | 33    | 32.4  | 1.1      | 0.34641        |
| Cu200     | 3.8  | 14.4  | 15    | 14.4  | 1.4      | 0.34641        |
| Co0       | 5.4  | 14.4  | 13.4  | 14.4  | 1.6      | 0.57735        |
| Co50      | 7.4  | 79.2  | 81    | 79.2  | 1.8      | 1.03923        |
| Co100     | .5   | 7.2   | 7.9   | 7.2   | 0.7      | 0.40415        |
| Co150     | 4.9  | 14.4  | 13.9  | 14.4  | 1.3      | 0.28868        |
| Co200     | 0.6  | 10.8  | 11    | 10.8  | 1.2      | 0.11547        |

**Resultados de germinación de semillas *Sorghum halepense* (S), *Phaseolus ixocarpa* (P), *Triticum vulgare* (T), *Cassia obtusifolia* (C). En % de inhibición a 150  $\mu$ M, con relación al control (100% de germinación= 0% de inhibición) con media y desviación estandard.**

| compuesto | 1   | 2   | 3   | Media d estand | error estándar |         |
|-----------|-----|-----|-----|----------------|----------------|---------|
| S MBC     | 54  | 55  | 53  | 54             | 1.735          |         |
| S Ni      | 83  | 80  | 86  | 83             | 1.05           |         |
| S Co      | 68  | 50  | 62  | 64             | 1.100          |         |
| S Cu      | 61  | 60  | 59  | 61             | 3.05505        | 1.76383 |
| P MBC     | 83  | 86  | 80  | 83             | 2              | 2.094   |
| P Co      | 90  | 94  | 86  | 90             | 4              | 2.3094  |
| P Cu      | 106 | 96  | 100 | 100            | 4              | 2.3094  |
| P Ni      | 80  | 77  | 83  | 80             | 0.57735        | 0.33333 |
| T MBC     | 61  | 50  | 62  | 56             | 1              | 0.57735 |
| T Co      | 94  | 98  | 96  | 96             | 1              | 0.57735 |
| T Cu      | 80  | 77  | 83  | 80             | 3              | 1.73205 |
| T Ni      | 36  | 38  | 40  | 38             | 0.57735        | 0.33333 |
| C MBC     | 87  | 90  | 96  | 92             | 7              | 4.04145 |
| C Cu      | 99  | 105 | 96  | 100            | 3              | 1.73205 |
| C Co      | 100 | 102 | 98  | 100            | 7.02377        | 4.05518 |
| C NI      | 96  | 94  | 98  | 96             | 3.05505        | 1.76383 |