

# Caracterização e quantificação de Benzoxazolinona (BOA) em extratos de plantas de milho (*Zea mays* L.)

Luis Wagner Rodrigues Alves<sup>1</sup>, Maria das Graças Cardoso<sup>2\*</sup>, Fabiana Rezende Muniz<sup>2</sup>, Ana Paula Soares Pinto Salgado<sup>2</sup>, Itamar Ferreira de Souza<sup>1</sup> e David Lee Nelson<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. <sup>2</sup>Laboratório de Química Orgânica, Universidade Federal de Lavras, Cx. Postal 3037, 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. <sup>3</sup>Departamento de Alimentos - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: mcardoso@ufla.br

**RESUMO.** Em função da interferência do milho em outras plantas, objetivou-se verificar a presença e a concentração de benzoxazolinona no milho por meio de extração aquosa obtida de material vegetal das cultivares AG-1051, C-333 e C-435. A massa fresca das amostras foi colocada em água destilada e deixada em repouso durante quatro horas. O extrato foi filtrado e particionado em solventes com diferentes polaridades. O extrato etéreo desidratado foi filtrado, concentrado em evaporador rotatório e levado à estufa. Este foi purificado por cromatografia de camada delgada. Recristalizou-se em hexano, e os cristais obtidos foram submetidos à análise em espectrometria no Infravermelho. As bandas presentes no produto padrão também foram caracterizadas nas amostras das cultivares de milho testadas. As amostras dos extratos foram qualificadas e quantificadas por espectrofotometria de ultravioleta. Pelos resultados, infere-se que a planta de milho possui em seu metabolismo a benzoxazolinona, na seguinte ordem decrescente: AG-1051 29  $\mu\text{g g}^{-1}$ , C-333 24  $\mu\text{g g}^{-1}$  e C-435 21  $\mu\text{g g}^{-1}$  de BOA.

**Palavras-chave:** Benzoxazolinona, alelopatia, *Zea mays* L.

**ABSTRACT. Characterization and quantification of Benzoxazolinone (BOA) in maize plant extract (*Zea mays* L.).** Due to the interference of maize on other plants, the presence and concentration of benzoxazolinone in this particular plant (maize) was determined via the aqueous extract of three varieties of maize (AG-1051, C-333 and C-435). The fresh sample material was allowed to stand in distilled water for four hours. The extract was filtered and partitioned with solvents of varying polarities. The dried ether extract was filtered, concentrated on a rotary evaporator and dried in an oven. The residue was purified by thin layer chromatography and recrystallized from hexane. The crystals were analyzed by infrared spectroscopy. The bands present in the spectrum of the reference substance were also observed in the spectra of the samples obtained from the three varieties of maize studied. The extract samples were characterized and quantified by UV spectroscopy. The results indicated that the three varieties of maize possessed benzoxazolinone in their metabolism in the decreasing order AG-1051 29  $\mu\text{g g}^{-1}$  > C-333 24  $\mu\text{g g}^{-1}$  > C-435 21  $\mu\text{g g}^{-1}$  of BOA.

**Key words:** Benzoxazolinone, allelopathy, *Zea mays* L.

## Introdução

Os ácidos hidroxâmicos constituem um grupo de substâncias que ocorrem naturalmente em plantas, e são também classificados como carbamatos cíclicos, e sintetizados na rota metabólica do ácido chiquímico, mais precisamente na produção do aminoácido triptofano (Tang *et al.*, 1975; Niemeyer, 1988).

Nos vegetais, os compostos do grupo ácidos hidroxâmicos apresentam variado grau de concentração e de toxicidade, sendo que os mesmos normalmente não causam prejuízo aqueles que os

sintetizam, porque esses ácidos se encontram na forma de glicosídeos e nessa condição não são fitotóxicos (Nair *et al.*, 1990). A toxicidade, principalmente para os organismos externos, se inicia quando ocorre dano nas células da planta e a enzima (benzoxazinone glicosidase) que promove a hidrólise do glicosídeo é liberada de sua compartimentalização (Nair *et al.*, 1990). Ocorre, então, a separação da glicose e da benzoxazinona, e esta última, possuindo grande toxicidade, exerce a função de proteção, conforme trabalho de Nair *et al.*, (1990).

As benzoxazinonas podem estar envolvidas

também, em atividades alelopáticas por longo período, desde que as mesmas sejam resistentes à degradação microbiana. Alternativamente, se um aleloquímico for metabolizado, é provável que metabólitos biologicamente ativos estejam envolvidos em todos os processos da alelopatia causados pelos resíduos de plantas, tais como o que ocorre com a benzoxazinona produzida por centeio que, quando é disponibilizada no solo, torna-se susceptível à transformação por vários microrganismos (Nair *et al.*, 1990).

A susceptibilidade toxicológica das plantas dicotiledôneas aos ácidos hidroxâmicos 2-benzoxazinona (BOA) e 2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona (DIBOA) é superior à das monocotiledôneas em cerca de 30%, conforme estudos realizados por Barnes e Putnam (1987).

O efeito estimulatório causado por baixas concentrações de ácidos hidroxâmicos resulta na habilidade do mesmo em agir como quelatizante do íon férrico (Barnes e Putnam, 1987). As constantes de estabilidade de dois ácidos hidroxâmicos extraídos do milho, para complexos de íon férrico, foram determinadas por Tipton e Buell (1970), sendo maiores (DIMBOA  $\log k = 21,3$  e DIBOA  $\log k = 19,4$ ) do que as constantes do ácido cítrico ( $\log k = 11,9$ ), o qual é reportado como responsável pela absorção e transporte do íon férrico em plantas superiores. Tipton e Buell (1970) concluíram que, nas concentrações presentes em tecidos de plantas jovens de milho, grandes proporções de íon férrico encontram-se na forma de complexos de ácidos hidroxâmicos. Contrariamente, Reigosa *et al.* (2001), usando alface como planta teste, verificaram que concentrações crescentes de BOA provocaram perda de vários íons pelas raízes. Encontraram, ainda, a ordem decrescente para ânions e cátions perdidos, que foi:  $\text{NO}_4^{-3} > \text{PO}_4^{-3} > \text{SO}_4^{-2} > \text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+ > \text{Ca}^{+2} > \text{NH}_4^+ > \text{Mg}^{+2}$ . Ao testar o efeito de BOA e de herbicidas (linuron e fluometuron), os autores concluíram que também BOA é muito ativo quando comparado aos herbicidas, podendo inclusive ser utilizado no manejo de planta daninha em sistema de plantio direto ou na agricultura sustentável, com o objetivo de minimizar o uso de herbicidas (Nagabhushana *et al.*, 2001).

Agricultores e técnicos têm observado que a lavoura cafeeira implantada em sucessão à cultura do milho normalmente apresenta dificuldades de desenvolvimento. Esse prejuízo no desenvolvimento da cultura, muitas vezes passando despercebido ou de causa atribuída a outros fatores, provoca o atraso na entrada da planta em produção, aliada ao potencial de redução na capacidade produtiva. Tudo

isso impede que a cultura do cafeeiro atinja sua máxima capacidade produtiva.

Com base nos dados acima, o presente trabalho teve por objetivo verificar a presença e concentração de benzoxazinona na espécie de milho por meio de extração aquosa de três cultivares (AG-1051, C-333 e C-435).

## Material e métodos

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Estado de Minas Gerais.

### Substância padrão

O produto 2-benzoxazinona (BOA) foi adquirido de Aldrich Chemical Co., Milwaukee, Wisconsin – USA, e utilizado como padrão para elaboração de todos os testes. Inicialmente o BOA foi submetido a testes de solubilidade em solventes com gradiente de polaridade, usando-se 20 mg de BOA para 1 mL de cada solvente, seguido de agitação por 15 e 30 segundos (Alves, 2003).

### Solubilidade do BOA

Na Tabela 1, pode ser observado que o BOA apresentou uma solubilidade ótima em éter etílico. Por essa razão, foi utilizado como solvente para o BOA padrão e para os compostos extraídos das cultivares de milho. Na extração dos compostos, apesar da água solubilizar BOA de forma mediana, como extrator ela mostrou-se eficaz, em conformidade com os trabalhos de Barnes *et al.* (1987).

**Tabela 1.** Solubilidade da substância BOA em diversos solventes. UFLA, Lavras, Estado de Minas Gerais, 2003.

Solvente	Solubilidade
Água	Média <sup>2</sup>
Metanol	Boa <sup>3</sup>
Etol	Boa <sup>3</sup>
Propanol	Boa <sup>3</sup>
Acetona	Boa <sup>3</sup>
Acetato de etila	Boa <sup>3</sup>
Éter etílico	Ótima <sup>4</sup>
Diclorometano	Boa <sup>3</sup>
Clerofórmio	Boa <sup>3</sup>
Penatno	Baixa <sup>1</sup>
Hexano	Baixa <sup>1</sup>
Ciclohexano	Baixa <sup>1</sup>
Benzeno	Boa <sup>3</sup>

<sup>1</sup>não solúvel; <sup>2</sup>solúvel após agitação por 30 segundos; <sup>3</sup>solúvel após agitação por 15 segundos; <sup>4</sup>solúvel imediatamente.

### Preparo do extrato

A parte aérea de plantas (folhas e caules) das cultivares AG-1051, C-435 e C-333 de milho foi coletada no estádio V3, cortada em fragmentos de 2 cm, e foram preparados três tipos de extratos

(aquoso, etanólico e hexanólico) (Fancelli e Dourado Neto, 1996).

**Extrato aquoso:** a técnica utilizada para a obtenção dos extratos aquosos foi a de extração a frio preconizada por Barnes *et al.* (1987). Amostra de matéria fresca (289,8 g da cultivar AG-1051, 315,0 g da cultivar C-333 e 409,5 g da cultivar C-435) foram levadas à estufa ventilada à temperatura de 55°C até a obtenção de peso constante. Posteriormente, cada amostra foi imersa em água destilada até a cobertura das folhas e deixada em repouso, na temperatura ambiente (20°C), durante 4h. Os extratos foram obtidos por filtragem em papel tipo Whatman 2 e a parte sólida foi descartada.

**Extratos hexanólico e etanólico:** a matéria fresca da parte aérea das plantas foi colocada em refluxo lento por 24 horas. Em seguida, filtrou-se em papel tipo Whatman 2, decantou-se e descartou-se o material sólido, enquanto a fase líquida obtida foi submetida à partição em solventes com diferentes polaridades (Alves, 2003).

#### Partição do extrato aquoso, hexanólico e etanólico

Os solventes utilizados para separar os constituintes químicos do extrato aquoso, hexanólico e etanólico foram o hexano, o éter etílico, o diclorometano e o acetato de etila, segundo Barnes *et al.* (1987). A fase orgânica de cada partição foi separada, enquanto a fase remanescente foi reutilizada para as próximas extrações com os solventes subseqüentes. Cada solução oriunda da partição do solvente subseqüente foi desidratada com sulfato de magnésio anidro e filtrada após duas horas. Esta foi evaporada utilizando o evaporador rotativo modelo Büchi R-114, acoplado em uma bomba de vácuo com pressão de 200 mm de Hg. O produto obtido foi levado à estufa (35°C) para evaporar o solvente remanescente, sendo posteriormente armazenado em geladeira a 5°C.

#### Análise cromatográfica

Na separação do BOA, a metodologia utilizada foi a de cromatografia de camada delgada (CCD), utilizando-se como fase estacionária Sílica Gel 60 GF 254 (Merck®). Utilizaram-se como eluentes misturas binárias de clorofórmio/acetato de etila, na proporção de 1:1 e 9:1 e clorofórmio/metanol na proporção de 1:1 e 9:1.

A cromatoplaça foi observada sob luz ultravioleta (UV), em comprimento de onda de 366 nm, e paralelamente a mesma foi revelada em atmosfera de iodo, determinando-se posteriormente o fator de retenção (*R<sub>f</sub>*) (Collins *et al.*, 2006).

A substância particionada, a partir dos extratos,

foi purificada usando-se placas de cromatografia (2,4 x 10 cm e 10 x 20 cm). Cada placa, após a revelação, apresentou a mancha característica para BOA, e a região da mancha foi raspada e solubilizada em éter etílico, e posteriormente filtrada. As soluções foram volatilizadas e os produtos obtidos foram levados à estufa para total eliminação do solvente. Os produtos foram cristalizados em hexano e os cristais obtidos foram submetidos às análises de espectrofotometria no infravermelho e espectrofotometria no ultravioleta (Collins *et al.*, 2006).

#### Espectrofotometria no infravermelho

O procedimento de análise para caracterização química em espectrofotometria no infravermelho (IV) foi realizado em espectrofotômetro Shimadzu FTIR-8201, utilizando como suporte pastilhas de KBr (brometo de potássio).

Procedeu-se à calibração do equipamento, com KBr puro visando a equilibrar a leitura da absorção. Em seguida, a substância BOA (padrão comercial) foi submetida à análise para caracterização de suas bandas de absorbância, sendo o espectro utilizado como padrão na comparação com os espectros dos compostos oriundos dos extratos aquosos das três cultivares de milho (Silverstein e Webster, 2000).

#### Espectrofotometria no ultravioleta

Na caracterização e na quantificação do produto padrão (BOA) utilizou-se a espectrometria de varredura no ultravioleta, cujo espectro foi fornecido pelo equipamento Varian Cary 50 Probe, por meio da análise em cubetas de quartzo de um centímetro de caminho ótico e dimensões externas de 12,5 mm, 12,5 e 45 mm, com capacidade de 3 mL, e apropriadas à região de 165 a 2600 nm (Silverstein e Webster, 2000).

Procedeu-se à calibração da leitura do espectro de absorção, no intervalo de 200 a 500 nm, utilizando amostra em branco, constituída de 3 mL de álcool etílico, sendo eliminados (zerado) o efeito do solvente e outras possíveis interferências. Posteriormente, o produto padrão (BOA) foi solubilizado em etanol e levado à análise de espectrofotometria para caracterização, sendo que o mesmo apresentou pico de absorbância em 272 nm, o qual foi utilizado como referência. Após o padrão foi submetido à análise de espectrofotometria, em duplicata, nas concentrações de 0; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 e 0,25 mmol L<sup>-1</sup> (Silverstein e Webster, 2000).

Cada amostra purificada dos extratos foi analisada e obtiveram-se os valores da absorbância no pico de 272 nm e os mesmos foram utilizados para calcular a quantidade de BOA. O resultado

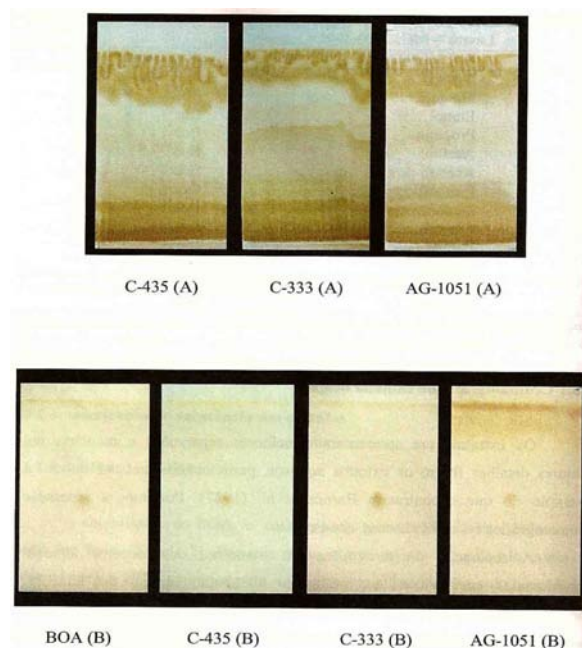
obtido foi correlacionado com a matéria fresca que forneceu a substância, determinando-se assim a quantidade de BOA por grama de tecido fresco.

## Resultados e discussão

### Cromatografia de camada delgada

Os extratos que apresentaram melhores separações e manchas em maiores detalhes foram os aquosos particionados em éter etílico, tal como encontrado por Barnes *et al.* (1987). Portanto, a separação cromatográfica foi efetuada com esse extrato.

A separação cromatográfica em manchas dos extratos aquosos particionados em éter etílico, utilizando a mistura binária dos eluentes clorofórmio/metanol nas proporções 9:1 e 1:1, apresentou valores de fator de retenção ( $R_f$ =distância percorrida pela amostra/distância percorrida pelo solvente) de 0,62 e de 0,68, respectivamente. Por sua vez, a mistura binária clorofórmio/acetato de etila, na proporção de 9:1 e 1:1 apresentaram valores de  $R_f$  de 0,47 e de 0,78, respectivamente, semelhante aos valores de  $R_f$  encontrados para BOA. As cromatoplasmas de BOA comercial e dos compostos extraídos das amostras das cultivares de milho, eluídas em mistura binária de clorofórmio/acetato de etila na proporção de 9:1, com  $R_f$  de 0,47 após revelação em vapores de iodo são apresentadas na Figura 1.



**Figura 1.** Cromatografia de camada delgada de BOA comercial e dos compostos extraídos de tecido vegetal de parte aérea das cultivares de milho C-435, C-333 e AG-1051 (A - Fase inicial e B - Fase final da separação), após revelação em atmosfera de iodo.

### Espectrofotometria no espectro Infravermelho

Os espectros das cultivares de milho mostraram-se bastante similares entre si, apresentando sinais de absorção dos grupos (presentes) encontrados no BOA (Tabela 2). Com base nesses resultados pode-se inferir que a substância BOA está presente em todas as cultivares de milho analisadas.

**Tabela 2.** Valores das principais frequências de absorção no infravermelho do BOA e dos compostos das cultivares de milho (AG-1051, C-333 e C-435). UFLA, Lavras, Estado de Minas Gerais, 2003.

BOA e Extratos*	v N-H (s e as) ( $\text{cm}^{-1} \pm 5$ )	v C-H (s e as) ( $\text{cm}^{-1} \pm 5$ )	v C=O (s e as) ( $\text{cm}^{-1} \pm 5$ )	$\delta$ C-H ( $\text{cm}^{-1} \pm 5$ )	$\delta$ NHR ( $\text{cm}^{-1} \pm 5$ )	Aromático ( $\text{cm}^{-1} \pm 5$ )
BOA	3.502-3.440	3.250-3.200	1.735	1.479	800-700	741
AG-1051	3.500	3.250-3.200	1.735	1.481	800-700	741
C-333	3.500	3.250-3.200	1.735	1.481	800-700	741
C-435	3.440-3.500	3.250-3.200	1.735	1.481	800-700	742

v - Estiramento;  $\delta$  - Deformação angular; s - Simétrico; as - Assimétrico; \* Substâncias oriundas do extrato aquoso particionado em éter etílico.

### Espectrofotometria no espectro Ultravioleta

Os resultados apresentados pela espectrofotometria de ultravioleta das amostras de tecido vegetal da parte aérea das cultivares analisadas foram semelhantes aos apresentados pela substância padrão (Figuras 2, 3, 4, 5), no pico de absorbância de 272 nm, e similares aos resultados obtidos por Woodward *et al.* (1978a) e Hietala e Virtanen (1960), em que foram determinados valores de pico de absorbância em 273 nm para o DIMBOA e 270 nm para BOA, ambos solubilizados em etanol. Essa determinação também corrobora com as demais metodologias utilizadas neste trabalho, havendo uma perfeita correspondência entre a concentração e a absorbância, seguindo a lei de Lambert-Beer (Raw e Colli, 1965; Skoog e Leary, 1992), originando uma curva padrão (curva de calibração) resultante da equação de regressão  $\hat{y} = 3,9934x - 0,0005$ , com coeficiente de determinação  $R^2 = 0,9997$  (Figura 6), suportando a interferência de que a substância analisada naquelas amostras era o BOA.

Os resultados de absorbância apresentados pelas análises das substâncias extraídas das amostras de tecidos da parte aérea das cultivares de milho (AG-1050 com 0,4797; C-333 com 0,4335; e C-435 com 0,4819) foram inseridos na equação de regressão da "curva padrão", e os valores encontrados foram correlacionados com a quantidade de matéria fresca que originou aquela amostra, gerando, assim, a relação entre massa de matéria fresca/ massa de BOA (Tabela 3), a exemplo do que fizeram Woodward *et al.* (1978b) para determinar valores de concentração a serem utilizados em tratamentos de bioensaio avaliando o desenvolvimento da colônia de *Erwinia* sp. Foi determinado, pois, que as cultivares de milho possuem em seu metabolismo a 2-benzoxazolinona, na seguinte

ordem decrescente de concentração: AG-1051 29  $\mu\text{g g}^{-1}$ , C-333 24  $\mu\text{g g}^{-1}$  e C-435 21  $\mu\text{g g}^{-1}$  de BOA.

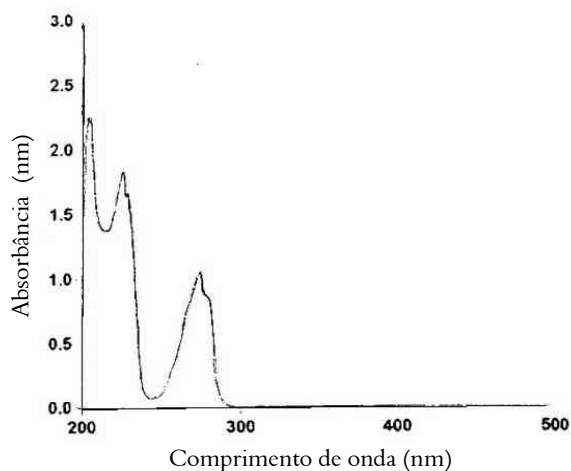


Figura 2. Espectro no ultravioleta do BOA padrão.

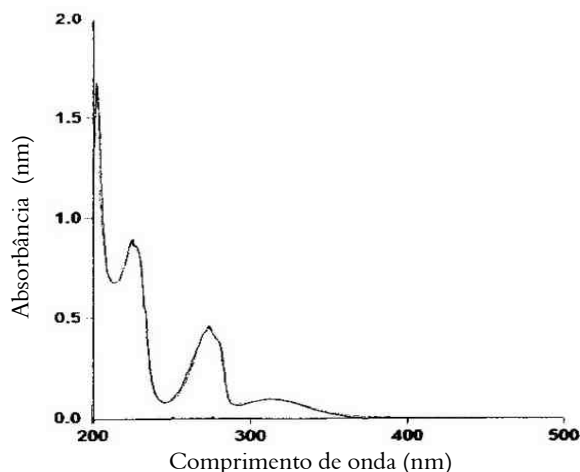


Figura 3. Espectro no ultravioleta do composto extraído de tecido vegetal da parte aérea de planta da cultivar de milho AG-1051.

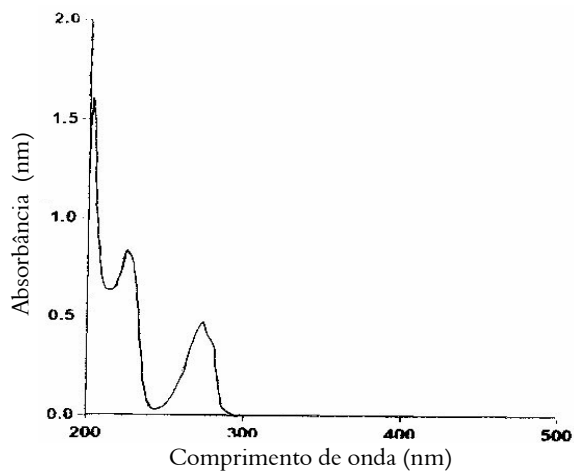


Figura 4. Espectro no ultravioleta do composto extraído da cultivar de milho C-435.

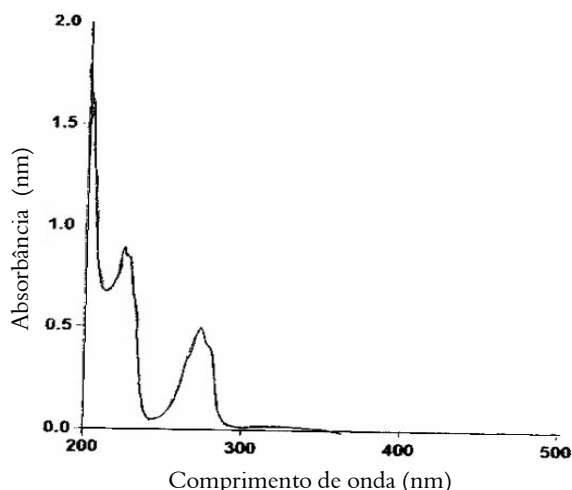


Figura 5. Espectro no ultravioleta do composto extraído da cultivar de milho C-333.

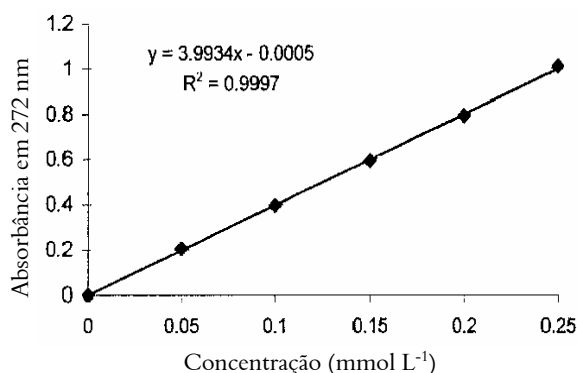


Figura 6. Curva espectrométrica de calibração no ultravioleta utilizando BOA comercial nas concentrações de 0; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 e 0,25  $\text{mmol L}^{-1}$ .

Tabela 3. Valores de absorvância no ultravioleta, dos compostos presentes na parte aérea das cultivares de milho (AG-1051, C-333 e C-435) e determinação de concentração de BOA por grama de massa fresca. UFLA, Lavras, Estado de Minas Gerais, 2003.

Cultivar	Absorvância	Molaridade	Matéria fresca (g)	Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
		( $\text{mmol L}^{-1}$ )		
AG-1051	0,4794	0,12012	1380	29
C-333	0,4335	0,10862	1500	24
C-435	0,4819	0,12075	1950	21

### Conclusão

As cultivares de milho apresentaram em seus tecidos a substância BOA em concentrações diferenciadas, que em ordem decrescente foram: AG-1051 com 29  $\mu\text{g g}^{-1}$ , C-333 com 24  $\mu\text{g g}^{-1}$  e C-435 com 21  $\mu\text{g g}^{-1}$  de BOA. Infere-se que a dificuldade de desenvolvimento apresentada pelas plantas de cafeeiro em sucessão a plantas de milho pode estar relacionada com a presença de BOA nos tecidos vegetais do milho.

## Referências

- ALVES, L.W.R. *Interferência alelopática da cultura do milho (*Zea mays* L.) sobre a cultura do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) plantada em sucessão*. 2003. Tese (Doutorado em Fitotecnia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.
- BARNES, J.P.; PUTNAM, A.R. Role of benzoxazines in allelopathy by rye (*Secale cereale* L.). *J. Chem. Ecol.*, New York, v. 13, n. 4, p. 889-906, 1987.
- BARNES, J.P. et al. Isolation and characterization of allelochemicals in rye herbage. *Phytochemistry*, Oxford, v. 26, n. 5, p. 1390, 1987.
- COLLINS, C.H. et al. *Fundamentos de cromatografia*. 1. ed. Campinas: Unicamp, 2006.
- FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. Milho: fisiologia da produção. In: SEMINÁRIO SOBRE FISIOLOGIA DA PRODUÇÃO E MANEJO DE ÁGUA E DE NUTRIENTES NA CULTURA DO MILHO DE ALTA PRODUTIVIDADE, 1996. Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: Esalq/USP/Potafos, 1996. p. 8-21.
- HIETALA, P.; VIRTANEN, A.I. Precursors of benzoxazolinone in rye plants. *Acta Chem. Scandinavica*, Helsinki, v. 14, n. 2, p. 502-504, 1960.
- NAGABHUSHANA, G.G. et al. Allelopathic cover crops to reduce herbicide use in sustainable agricultural system. *Allelopathy J.*, Hisar, v. 8, n. 2, p. 133-146, 2001.
- NAIR, M.G. et al. 2,2'-oxo-1,1'-azobenzene a microbially transformed allelochemical from 2,3-benzoxazolinone. *J. Chem. Ecol.*, New York, v. 16, n. 2, p. 353-364, 1990.
- NIEMEYER, H.M. Hydroxamic acids (4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones), defence chemicals in the gramineae. *Phytochemistry*, Oxford, v. 27, n. 11, 3349-3358, 1988.
- RAW, I.; COLLI, W. *Fundamentos de bioquímica*. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 1965.
- REIGOSA, M.J. et al. Comparison of physiological effects of allelochemicals and commercial herbicides. *Allelopathy J.*, Hisar, v. 8, n. 2, p. 211-2220, 2001.
- SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 6. ed. Rio de Janeiro: Editora Livros Técnicos e Científicos, 2000.
- SKOOG, D.A.; LEARY, J.J. *Principles of instrumental analysis*. 4. ed. Orlando: Saunders College Publishing, 1992.
- TANG, C.S. et al. Gas chromatographic determination of 2(3)-benzoxazolinones from cereal plants. *Phytochemistry*, Oxford, v. 14, n. 12, p. 2077-2079, 1975.
- TIPTON, C.L.; BUELL, E.L. Ferric iron complexes of hydroxamic acids from maize. *Phytochemistry*, Oxford, v. 9, n. 6, p. 1215-1217, 1970.
- WOODWARD, M.D. et al. Decomposition of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one in aqueous solutions. *Plant Physiol.*, Rockville, v. 61, n. 5, p. 796-802, 1978a.
- WOODWARD, M.D. et al. Factors that influence the activity of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3(4H)-one on *Erwinia* species in growth. *Plant Physiol.*, Rockville, v. 61, n. 5, p. 803-805, 1978b.

Received on August 28, 2006.

Accepted on December 08, 2006.