

PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE SORGOLEONE E SUA QUANTIFICAÇÃO EM GENÓTIPOS DE SORGO (*Sorghum bicolor* L. Moench)

MICHELANGELO MUZZELL TREZZI *
RIBAS ANTONIO VIDAL **
MARIA DO CARMO RUARO PERALBA ***
DEBORAH PINHEIRO DICK ****
NELSON DIEHL KRUSE *****

O isolamento, caracterização e quantificação de substâncias com potencial alelopático são fundamentais para determinação de sua atividade biológica individual ou em conjunto com outras substâncias. Este trabalho visou purificar e indentificar o composto predominante em extratos hidrofóbicos de raízes de sorgo e determinar a variabilidade de produção e a pureza da quinona sorgoleone em genótipos de sorgo. Radículas de 41 genótipos de sorgo foram mergulhadas em solução de diclorometano contaminada com ácido acético para a obtenção de extratos hidrofóbicos totais e sua concentração na matéria seca. Os extratos de cinco genótipos (RS 11, 741, BR 601, HYC 42 e BR 304) foram purificados por cromatografia em coluna (CC) e analisados por espectroscopia de ressonância magnética de prótons (RMN-H) e cromatografia a líquido de alta eficiência (HPLC). Sorgoleone, em sua forma oxidada {2 hidroxi-5-metoxi-3-[(8'z, 11'z)-pentadeca-8', 11',14'-trien-1-il]-p-benzoquinona} constituiu o composto predominante (73 a 82%) nos extratos. A produção de extratos hidrofóbicos em 100 radículas variou de 0,35 mg a 2,98 mg, enquanto a concentração na massa seca de 5,26 mg.g⁻¹ a 27,5 mg.g⁻¹. A quantidade de extratos hidrofóbicos produzidos pelos 41 genótipos seguiu a distribuição de Gaus, com a maioria dos genótipos produzindo a quantidade de compostos intermediária à relatada acima.

PALAVRAS-CHAVE: ALELOPATIA; METABOLISMO SECUNDÁRIO; CROMATOGRAFIA; ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DE PRÓTONS.

-
- * Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitotecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, Pato Branco, PR (e-mail: mtrezzi@brturbo.com.br).
** Engenheiro Agrônomo, Ph.D. em Weed Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS.
*** Química, Doutora em Físico-Química, Instituto de Química, UFRGS, Porto Alegre, RS.
**** Química, Doutora em Agronomia, Instituto de Química, UFRGS, Porto Alegre, RS.
***** Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS.

1 INTRODUÇÃO

Plantas cultivadas produzem metabólitos secundários capazes de gerar efeitos sobre o desenvolvimento de plantas daninhas (PUTNAM, 1987; FERREIRA e AQUILA, 2000). A campo, os efeitos alelopáticos são freqüentemente confundidos com outros tipos de interferência ou efeitos gerados por fatores físicos, químicos e biológicos, devido à presença das plantas ou de material em decomposição sobre o solo.

A separação e purificação das substâncias pode ser efetuada com base no tamanho molecular, carga ou características adsorptivas das mesmas. Para tanto são utilizados vários métodos, como cromatografia em camada delgada (TLC, em papel ou placa), em coluna (CC), a líquido de alta eficiência (HPLC) e a gás (GC) (WALLER, FENG e FUJII, 1999). Técnicas complementares à cromatografia, como as espectrometrias de ultravioleta (UV) e infravermelho, de massa (MS) e de ressonância magnética (NMR) constituem ferramentas fundamentais para a caracterização de substâncias alelopáticas (WALLER, FENG e FUJII, 1999).

A partir de extratos obtidos pela imersão de radículas de sorgo em mistura de diclorometano e de ácido acético, NETZLY et al. (1988) foram os primeiros a isolar grupo de cinco benzoquinonas estruturalmente relacionadas. Nesse estudo, a benzoquinona com menor tempo de retenção em HPLC foi a predominante nos extratos. CHANG et al. (1986) identificaram-na como sorgoleone {2-hidroxi-5-metoxi-3-[(8'z,11'z)-8',11',14'-pentadecatrieno]-p-benzoquinona}. A forma oxidada dessa molécula representa 90% dos extratos totais, sendo mais estável no ambiente que a forma reduzida (NETZLY et al., 1988; FATE, CHANG e LYNN, 1990).

HESS, EJETA e BUTLER (1992) avaliaram 12 genótipos de sorgo e RODRIGUES et al. (2001) trataram 10 genótipos, mas não verificaram variabilidade entre eles na produção total de sorgoleone. A produção de sorgoleone, no entanto, é sensível às condições do ambiente, particularmente à quantidade de água disponível para as radículas no substrato (HESS, EJETA e BUTLER, 1992). Variações consideráveis nas quantidades totais de extratos foram obtidas por NIMBAL et al. (1996) testando 25 genótipos de sorgo. FERREIRA et al. (1999) obtiveram resultados semelhantes analisando 6 genótipos de sorgo. Além da variação nas quantidades totais de sorgoleone, NIMBAL et al. (1996) e FERREIRA et al. (1999) detectaram, respectivamente, variações em sua proporção nos extratos (pureza) entre 76 e 99% e entre 90,8 e 98,8%.

Os objetivos deste estudo foram purificar e indentificar o composto predominante em extratos hidrofóbicos de raízes de sorgo e determinar a variabilidade de produção e a pureza de sorgoleone em genótipos de sorgo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Procederam-se, inicialmente, a purificação e identificação da substância sorgoleone. Posteriormente, a partir de padrão purificado quantificou-se sorgoleone em genótipos de sorgo.

2.1 PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE SORGOLEONE

A purificação da mistura de extratos de natureza hidrofóbica, contendo sorgoleone, originados por extração com diclorometano e ácido acético de radículas de 41 genótipos de sorgo (Tabela 1) foi realizada por cromatografia em coluna. Para esse procedimento utilizou-se coluna de vidro com 1,5 cm de diâmetro e 40 cm de comprimento, preenchida com sílica gel (Merck, 60 malhas 60 Å) e pré-condicionada com clorofórmio. Doze horas após o condicionamento, a mistura de sílica e dos extratos radiculares contendo sorgoleone foi colocada no topo da coluna e submetida ao fracionamento, utilizando-se clorofórmio:acetona (96:4 v/v) como eluente. A banda predominante (com coloração rósea)

foi coletada, filtrada a vácuo com papel filtro comum e evaporada em evaporador rotatório. Esse procedimento foi realizado apenas uma vez, sendo semelhante ao adotado por FERREIRA et al. (1999), mas utilizando mistura de éter dietílico e metanol (98:2) como eluente.

Espectroscopia de ressonância magnética de prótons (RMN-H) e cromatografia a líquido de alta eficiência (HPLC) foram utilizadas para identificar quimicamente os compostos obtidos após os processos de purificação. Nas análises por HPLC as amostras foram diluídas em metanol, enquanto para RMN-H utilizou-se clorofórmio deuterado como solvente.

TABELA 1 - GENÓTIPOS DE SORGO UTILIZADOS, ALGUMAS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS, PRODUÇÃO E CONCENTRAÇÃO DE EXTRATOS HIDROFÓBICOS EM SUAS RAÍZES¹

Genótipo	Características	Produção total de extratos (mg.100 radículas ⁻¹)	Concentração de extr (mg.g ⁻¹ matéria seca de
AG 3001	Granífero (com tanino)	2,98	24,72
BR 304	Granífero	2,71	10,05
AG 1017	Granífero	2,59	24,46
A 9908	*	2,34	18,94
855 F	Forageiro (corte/pastejo)	2,34	17,11
AGX 213	Forageiro (silagem)	2,34	18,49
AG 2501C	Forageiro (corte/pastejo)	2,33	16,65
A 9806	*	2,27	18,53
HYC 42	Granífero	2,24	15,96
CMSXS 755	Forageiro (silagem)	2,14	15,65
P 8118	Granífero	2,11	15,67
MS 2	Granífero	1,96	15,53
BR 700	Forageiro (silagem)	1,92	15,72
BR 601	Forageiro (silagem)	1,89	13,54
AG 3002	Granífero (com tanino)	1,85	14,93
CEXP 9701	Granífero	1,80	13,32
AG 2002	Forageiro (silagem)	1,79	12,14
CEXP 9702	Forageiro (silagem)	1,76	27,49
AG 2005	Duplo propósito	1,72	22,07
BR 305	Granífero	1,57	14,71
BRS 800	Forageiro (corte/pastejo)	1,56	11,20
C 51	Granífero	1,52	21,31
BRS 303	Granífero	1,49	11,30
BRS 306	Granífero	1,45	11,00
BRS 701	Forageiro (silagem)	1,37	9,39
PAST 9A	Forageiro (silagem)	1,33	16,82
8419	Granífero (com tanino)	1,32	12,38
PAST 10	Forageiro (silagem)	1,29	14,39
HYC 51	Granífero (com tanino)	1,16	13,08
PAST 12	Forageiro (silagem)	1,09	15,84
DK 67	Granífero	1,05	9,55
745	Granífero	0,96	6,01
822	Granífero	0,91	5,75
741	Granífero	0,91	7,07
P 82	Granífero	0,86	6,43
DK 57	Granífero	0,83	7,95
MASSA 3	Duplo propósito	0,80	5,81
DK 915	Forageiro (silagem)	0,75	8,09
732	Granífero	0,66	5,26
DK 861	Duplo propósito	0,41	5,40
RS 11	Forageiro (silagem)	0,35	6,79
Teste F (Tratamentos)		4,66	5,24
Probabilidade > F		0,00001	0,00001
DMS (0,05)		0,84	6,94
CV (%)		38,19	36,57

¹Determinadas a partir de sementes germinadas nas placas de petri em câmara de crescimento.

* Não-identificado.

CV = coeficiente de variação.

DMS = diferença mínima significativa.

As análises por RMN-H foram realizadas apenas uma vez e as por HPLC em triplicata.

Utilizou-se equipamento marca Varian (modelo VXR200) para a análise por RMN-H em frequência de 200 MHz. A análise por HPLC foi processada em equipamento Shimadzu LC-10AD, sob as seguintes condições: detector ultra-violeta (UV) a 280 nm; coluna de fase reversa C18 (250 mm x 4,6 mm); 'loop' de injeção com capacidade de 50 µl; temperatura do forno de 30°C; fase móvel acetonitrila:água:ácido acético glacial (75:18,7:6,3 v/v) em fluxo de 2,0 mL.min⁻¹. A fase móvel e as amostras foram filtradas em membranas de nylon de 0,45 µm de diâmetro.

2.2 QUANTIFICAÇÃO DE EXTRATOS RADICULARES HIDROFÓBICOS E DETERMINAÇÃO DA PUREZA DE SORGOLEONE

Para a quantificação de sorgoleone em genótipos de sorgo adotou-se procedimento semelhante ao utilizado por NIMBAL et al. (1996). Sementes de 41 genótipos de sorgo, provenientes de empresas públicas e privadas, foram dispostas em placas de petri revestidas com papel filtro umedecido com água destilada e colocadas em câmara de germinação a 29°C por 5 dias no escuro. Após a germinação, 200 radículas de cada genótipo foram destacadas das plântulas e mergulhadas por 20 segundos em solução de 10 mL de cloreto de metileno + 1% v/v de ácido acético glacial. O extrato coletado foi filtrado a vácuo (filtro Watmann nº 1) e então evaporado em capela a temperatura ambiente até a secagem, sendo posteriormente pesado. Para cada genótipo, esse processo foi repetido quatro vezes.

Foram avaliadas as produções de extratos hidrofóbicos de 100 radículas e pela massa seca de radículas. A produção de extratos totais e sua relação com a massa seca de radículas foram submetidas à análise de variância pelo teste F e, posteriormente, comparadas pelo teste DMS (RIBOLDI, 1995). Agruparam-se os genótipos em classes de produção de extratos hidrofóbicos, conforme a média e 0,9 desvio-padrão da mesma, determinando-se a frequência de distribuição de genótipos em cada classe. Testou-se a significância da distribuição normal dos dados de produção de sorgoleone entre as classes de produção pelo teste χ^2 , utilizando-se o programa Origin.

Cinco genótipos, pertencentes a cada uma das classes de produção de extratos hidrofóbicos por 100 radículas, foram selecionados para a determinação da pureza relativa de sorgoleone nos extratos, mediante HPLC, conforme descrito anteriormente. Utilizaram-se apenas cinco genótipos em função do custo elevado das análises cromatográficas caso o procedimento fosse realizado para todos os 41 genótipos. Para cada genótipo, primeiramente, determinou-se a pureza relativa de sorgoleone em relação aos demais compostos presentes no cromatograma, mediante quociente entre a área do pico de sorgoleone e as dos demais compostos. Estimou-se, também, a eficiência de purificação da cromatografia em coluna pelo quociente entre a área do pico de sorgoleone oxidado do extrato purificado em relação às áreas dos picos desse composto nos cinco genótipos de sorgo. Essas determinações tiveram como referência a concentração de 5 ppm. Procedeu-se análise de variância pelo teste F da pureza relativa em relação ao somatório das áreas e as médias foram posteriormente comparadas pelo teste DMS (RIBOLDI, 1995).

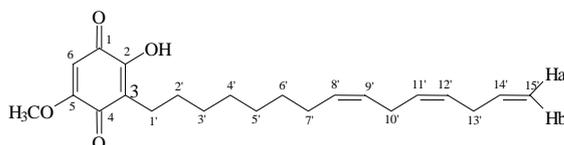
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO

A Figura 1 apresenta a fórmula estrutural de sorgoleone na forma oxidada. Os dados espectroscópicos de RMN-H (descritos a seguir) das substâncias resultantes da purificação com cromatografia em coluna confirmaram a forma oxidada de sorgoleone {2 hidróxi-5-metóxi-3-[(8'z, 11'z)-pentadeca-8', 11', 14'-trien-1-il]-p-benzoquinona} (CHANG et al., 1986) como a estrutura predominante. RMN de ¹H da cromatografia em coluna: δ (J = Hz): 1,25-1,61 (m, 1OH, 2'-CH₂ a 6' - CH₂); 1,88-2,05

(m, 2H, H7'); 2,44 (dd, $J_1=J_2=7,4$; H1'); 2,70-2,85 (m, 4H, H10' E H13'); 3,85 (s, 3H, OCH₃); 4,97 (ddt, 1H, $J_{cis} = 9,80$; $J_{H_{15'a'}, H_{15'b}} = J_{H_{15'a}, H_{13'}} = 1,80$; H 15'a); 5,01 (ddt, 1H, $J_{trans} = 17,00$; $J_{H_{15'b}, H_{15'a}} = J_{H_{15'b}, H_{13'}} = 1,80$; H15' b); 5,25-5,54 (m, 4H, H8', H9', H11', H12'); 5,67 – 5,94 (ddt, $J_{trans} = 17,00$; $J_{cis} = 9,80$; $J_{14', 13'} = 6,1$; H14'); 5,83 (s, 1H, H6); 7,25 (s, 1H, OH).

FIGURA 1 - ESTRUTURA DE SORGOLEONE NA FORMA OXIDADA {2 HIDROXI-5 METOXI-3-[(8'Z, 11'Z) – PENTADECA – 8', 11', 14' –TRIEN–1-IL] - P - BENZOQUINONA}



Fonte: NETZLY et al., 1988.

A análise por HPLC do extrato purificado em coluna evidenciou cinco picos cromatográficos com tempos de retenção de 7,7, 10,7, 12,7, 16,5 e 30,3 min, indicando a existência de cinco compostos distintos (Figura 2). Sorgoleone na forma oxidada, composto predominante, situou-se no tempo de retenção de 7,7 min, cuja área correspondeu a 77,8 % do somatório das áreas de todos os picos cromatográficos (Tabela 2).

A eficiência do processo de purificação, estimada pelo quociente entre a área do pico de sorgoleone oxidado do extrato purificado em relação ao pico desse composto em cinco genótipos de sorgo (Tabela 3) variou entre 1,19 e 1,45. Esse extrato purificado em coluna cromatográfica, tendo como estrutura principal sorgoleone, passou a ser utilizado como padrão de referência para o composto. NETZLY e colaboradores (1988) revelaram a existência de seis compostos quinonóides nos extratos radiculares de sorgo granífero. Os cinco primeiros (com menor tempo de retenção) apresentaram estruturas características de benzoquinonas (NETZLY et al., 1988). CZARNOTA e colaboradores (2001) ao analisarem o cromatograma de extratos de sete genótipos de sorgo revelaram, no mínimo, quatro substâncias, embora o número tenha variado de quatro a seis.

FIGURA 2 - CROMATOGRAMA TÍPICO DE EXTRATOS HIDROFÓBICOS DE RADÍCULAS DE SORGO PURIFICADOS POR CROMATOGRAFIA EM COLUNA, INDICANDO OS PICOS DE CINCO SUBSTÂNCIAS

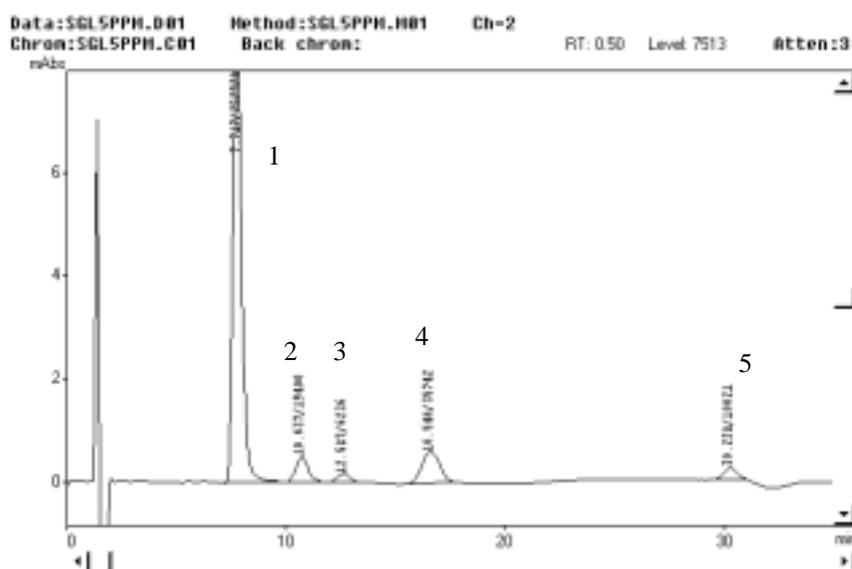


TABELA 2 - ÁREAS DOS PICOS RELATIVAS AO SOMATÓRIO TOTAL DE COMPOSTOS PRESENTES EM EXUDATOS RADICULARES PURIFICADOS EM COLUNA CROMATOGRÁFICA

	Área relativa à área total (%)					Total
	Sorgoleone	Substância 2	Substância 3	Substância 4	Substância 5	
Extratos purificados (padrão)	77,8*	6,2	1,9	10,8	3,3	100

* Média de três determinações.

3.2 QUANTIFICAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA PUREZA DE SORGOLEONE

Os genótipos diferiram em sua capacidade de produzir extratos radiculares de natureza hidrofóbica, como demonstrou o experimento em que as sementes germinaram nas placas de petri em câmara de crescimento (Tabela 1).

A produção de extratos hidrofóbicos em 100 radículas variou de 0,35 mg, no genótipo RS 11, até 2,98 mg no genótipo AG 3001 (Tabela 1). NIMBAL et al. (1996) observaram produção máxima e amplitude de produção de sorgoleone superiores (0,4 a 10,7 mg.100 radículas⁻¹) às constatadas neste trabalho e por FERREIRA et al. (1999) (entre 2,6 e 5,8 mg.100 radículas⁻¹). A produção de extratos hidrofóbicos por massa seca de radículas, isto é, a concentração no tecido variou de 5,26 mg.g⁻¹ no genótipo 732 até 27,5 mg.g⁻¹ no CEX 9702 (Tabela 1). Variações de 12 a 26, de 16 a 32 e de 11 a 16,2 mg sorgoleone.g⁻¹ massa seca foram obtidas, respectivamente, em coleções de 12 (HESS et al., 1992), 10 (RODRIGUES et al., 2001) e 6 (FERREIRA et al., 1999) genótipos de sorgo. Portanto, a produção total de sorgoleone e sua concentração na matéria seca variam de acordo com o conjunto de genótipos avaliados.

TABELA 3 - PUREZA RELATIVA DE EXTRATOS HIDROFÓBICOS DE CINCO GENÓTIPOS DE SORGO

Tratamento	Pureza relativa (%) ao somatório das áreas dos picos ¹	Pureza relativa (%) ao sorgoleone do padrão	Eficiência da purificação ²
Padrão	³ a 77,8	100	1,00
RS 11	b 72,6 d ⁴	69	1,45
741	a 79,1 bc	84	1,19
BR 601	a 78,1 c	77	1,29
HYC 42	b 82,2 a	76	1,31
BR 304	b 79,5 b	71	1,40
Teste F (tratamentos)	67,51		
Probabilidade > F	0,00001		
DMS (0,05)	1,36		
CV (%)	0,95		

¹ Média de três determinações.

² Determinada pelo quociente entre a pureza do padrão (100%) e a pureza de cada genótipo relativa a ele.

³ Médias de genótipos não-antecedidas pela mesma letra da testemunha diferem significativamente pelo teste de Dunnett em nível de 5% de probabilidade de erro.

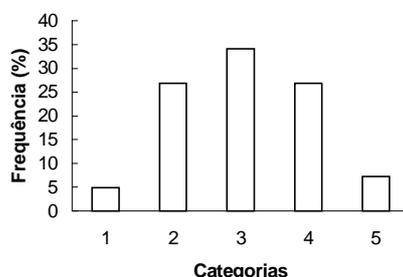
⁴ Médias não-seguidas pela mesma letra, na coluna, diferem significativamente pelo teste DMS em nível de 5% de probabilidade de erro.

Os 41 genótipos de sorgo foram agrupados em cinco classes, conforme a produção total de extratos em 100 radículas. As classes foram separadas segundo a média (1,58 mg.100 radículas⁻¹) e intervalo correspondente a 0,9 do desvio-padrão (desvio padrão = 0,65 mg.100 radículas⁻¹) para cada classe (Figura 3). A distribuição de freqüências de genótipos de sorgo nas classes seguiu a curva

normal ($P < 0,01$), predominando maior número de genótipos com produção média de extratos e pequeno número de genótipos nas classes superior e inferior. A terceira classe de produção de sorgoleone (entre 1,287 e 1,872 mg.100 radículas⁻¹) revelou o maior número de genótipos (35%) (Figura 3).

Conforme relatado anteriormente, sorgoleone foi o composto predominante nos extratos hidrofóbicos dos genótipos RS 11, 741, BR 601, HYC 42 e BR 304, variando de 73 (RS 11) a 82% (HYC 42) das áreas dos picos cromatográficos (Tabela 3). NIMBAL et al. (1996), trabalhando com 25 genótipos, observaram variação em relação ao somatório das áreas dos picos entre 76 e 99%. FERREIRA et al. (1999), utilizando seis genótipos, constataram menor variação, entre 90,8 e 98,8%. Observou-se tendência de ampliação nas variações de conteúdo de sorgoleone em extratos hidrofóbicos com elevação do número de genótipos testados.

FIGURA 3 - DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIAS* DE GENÓTIPOS DE SORGO EM CINCO CATEGORIAS DE PRODUÇÃO DE EXTRATOS HIDROFÓBICOS POR 100 RADÍCULAS EM LABORATÓRIO



* Distribuição segundo a média ($x = 1,58$ mg.100 radículas⁻¹) e desvio-padrão ($dp = 0,65$ mg.100 radículas⁻¹): 1 ($0,117 < x < 0,702$), 2 ($0,702 < x < 1,287$), 3 ($1,287 < x < 1,872$), 4 ($1,872 < x < 2,457$), 5 ($2,457 < x < 3,042$) (significância à equação normal (1%) pelo teste χ^2).

Os resultados evidenciaram variabilidade genética em sorgo, tanto na produção de extratos quanto na pureza relativa de sorgoleone nos mesmos, que pode ser aproveitada em programas de melhoramento genético e na seleção de materiais visando incrementar a produção desse aleloquímico nas plantas.

4 CONCLUSÃO

Sorgoleone, em sua forma oxidada, constituiu o composto predominante (73 a 82%) em extratos hidrofóbicos de raízes de sorgo.

A distribuição de genótipos de sorgo em classes de produção total de extratos hidrofóbicos seguiu a curva normal, com maior proporção de genótipos produzindo quantidades médias de extratos.

A produção total de extratos hidrofóbicos, sua concentração nos tecidos e a pureza de sorgoleone variaram entre os genótipos de sorgo.

Abstract

PURIFICATION AND IDENTIFICATION OF SORGOLEONE AND ITS QUANTIFICATION IN SORGHUM (*Sorghum bicolor* L. Moench) GENOTYPES

Isolation, characterization and quantification of potential allelopathic compounds are fundamental for determination of their single biological activity or with other compounds. This work aimed to purify and to identify the main substance in hydrophobic extracts of sorghum roots, and to determine the production

variability and purity of the quinone sorgoleone in sorghum genotypes. Roots of 41 sorghum genotypes were immersed in dichloromethane solution contaminated with acetic acid for the obtention of total hydrophobic extracts and its concentration in dry matter. The extracts of five sorghum genotypes (RS 11, 741, BR 601, HYC 42 and BR 304) were purified by column (CC) chromatography and analyzed by magnetic resonance of protons spectroscopy (NMR-H) and high performance liquid chromatography (HPLC). The sorgoleone, in its oxidized form {2 hidroxi-5-metoxi-3-[(8'z, 11'z)-penta-deca - 8', 11',14'-trien-1-il]-p-benzoquinone} constitutes the main component (73 to 82%) in extracts. The production of hydrophobic extracts in 100 roots ranged from 0.35 mg to 2.98 mg while its concentration in dry mater from 5.26 mg.g⁻¹ to 27.5 mg.g⁻¹. The amount of hydrophobic extracts produced by 41 sorghum genotypes followed the Gauss distribution, with the majority of genotypes producing the intermediary amount of the compounds reported above.

KEY-WORDS: ALLELOPATHY; SECONDARY METABOLISM; CHROMATOGRAPHY; MAGNETIC RESONANCE OF PROTONS SPECTROSCOPY.

REFERÊNCIAS

- 1 CHANG, M.; NETZLY, D.H.; BUTLER, L.G.; LYNN, D.G. Chemical regulation of the first natural host germination stimulant for *Striga asiatica*. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 108, n. 24, p. 7858-7860, 1986.
- 2 CZARNOTA, M.A.; REX, N.P.; DAYAN, F.E.; NIMBAL, C.; WESTON, L.A. Mode of action, localization of production, chemical nature, and activity of sorgoleone: a potent inhibitor in *Sorghum* spp. root exsudates. **Weed Technology**, Lawrence, v. 15, n. 4, p. 813-825, 2001.
- 3 FATE, G.; CHANG, M.; LYNN, D.G. Control of germination in *Striga asiatica*: chemistry of spatial definition. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 93, n. 1, p. 201-207, 1990.
- 4 FERREIRA, A.F.; AQUILA, M.E.A.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12 (Edição especial), p. 175-204, 2000.
- 5 FERREIRA, M.L.; BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; SILVA, A.A.; WAKIL, J. Análise e quantificação da sorgoleona em diferentes cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* L.). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 21, n. 3, p. 565-570, 1999.
- 6 HESS, D.E.; EJETA, G.; BUTLER, L.G. Selecting sorghum genotypes expressing a quantitative biosynthetic trait that confers resistance to *Striga*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 493-497, 1992.
- 7 NETZLY, D.H.; RIOPEL, J.L.; EJETA, G.; BUTLER, L.G. Germination stimulant of witchweed (*Striga asiatica*) from hydrophobic root exudate of sorghum (*Sorghum bicolor*). **Weed Science**, Champaign, v. 36, n. 4, p. 441-446, 1988.
- 8 NIMBAL, C.I.; PEDERSON, J.; YERKES, C.N.; WESTON, L.A.; WELLER, S.C. Phytotoxicity and distribution of sorgoleone in grain sorghum germplasm. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**, Easton, v. 44, n. 5, p. 1343-1347, 1996.
- 9 PUTNAM, A.R. Weed allelopathy. In: DUKE, S.O. (Ed.) **Weed Physiology**: reproduction and ecophysiology. Boca Raton: CRC, 1987. v. 1. p. 131-155.
- 10 RIBOLDI, J. **Cadernos de matemática e estatística**: análise de variância. Porto Alegre: Instituto de Matemática/ UFRGS, 1995. 105 p. (Série B, 27).
- 11 RODRIGUES, J.C.; FERREIRA, F.A.; SANTOS, R.H.S.S.; MIRANDA, G.V. Determinação do conteúdo de sorgoleona nos exsudatos radiculares de híbridos de sorgo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 48, n. 275, p. 49-54, 2001.
- 12 WALLER, G.R.; FENG, M.C.; FUJII, Y. Biochemical analysis of allelopathic compounds: plants, microorganisms, and soil secondary metabolites. In: INDERJIT, D.K.M.M.; FOY, C.L. (Eds.). **Principles and practices in plant ecology**: allelochemical interactions. Boca Raton: CRC Press, 1999. p. 75-98.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos professores Valter Stefani e Beatriz Tenius (Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul) pelo auxílio na realização de análises cromatográficas e do processo de purificação e na interpretação das análises de ressonância magnética e ao professor Luiz Cláudio Barbosa (Universidade de Viçosa) por esclarecer metodologia de purificação.