

# Potencial alelopático de *Plectranthus barbatus* Andrews na germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. e de *Bidens pilosa* L.

*Allelopathic potential of Plectranthus barbatus Andrews on Lactuca sativa L. and Bidens pilosa L. seeds germination*

Natasha Azambuja<sup>1</sup>, Clairomar Emílio Flores Hoffmann<sup>2</sup>, Luiz Augusto Salles das Neves<sup>3</sup>, Edir Patrick Leal Goulart<sup>4</sup>

Recebido em 20/05/2009; aprovado em 19/02/2010.

## RESUMO

Extratos aquosos de infusão (EBIN) de folhas secas de *Plectranthus barbatus* Andrews, nas concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100%, foram preparados com o objetivo de determinar o potencial alelopático dessa espécie medicinal sobre sementes de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. O experimento foi conduzido no mês de janeiro de 2009, no Laboratório de Genética Vegetal da Universidade Federal de Santa Maria. Foram avaliados a primeira contagem da germinação (PCG), a germinação (G), o índice de velocidade de germinação (IVG) e o comprimento da parte aérea e das raízes. Todos os parâmetros avaliados foram afetados pelos EBIN de *Plectranthus barbatus* Andrews a partir da menor concentração, sendo que as sementes e as plântulas de *Bidens pilosa* L. demonstraram maior sensibilidade aos extratos do que as de *Lactuca sativa* L. Com os resultados obtidos pode-se inferir que EBIN de *Plectranthus barbatus* possui potencial alelopático.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Plectranthus barbatus*, infusão, germinação, IVG.

## SUMMARY

Aqueous extracts from dry leaves of *Plectranthus barbatus* Andrews (EBIN), in concentrations of 0; 25, 50, 75, and 100% (v/v), were prepared with the objective of studying the allelopathic potential of this medicinal species on *Lactuca sativa* L. and *Bidens pilosa* L. seeds. The experiment was carried out in January of 2009, at the Genetic Laboratory of Santa Maria Federal University. The first count germination (PCG), germination (G), germination speed index (IVG) and shoot and root length were evaluated. All parameters were affected by EBIN of *Plectranthus barbatus* from the lower concentration on. The seeds and seedlings of *Bidens pilosa* L. presented greater sensitivity to the extracts than those of *Lactuca sativa* L. The results allow us to infer that EBIN of *Plectranthus barbatus* have allelopathic potential.

**KEY WORDS:** *Plectranthus barbatus*, infusion, germination, IVG.

## INTRODUÇÃO

A alelopatia refere-se a qualquer ação de uma planta sobre a outra, favorecendo ou prejudicando a segunda, por meio de componentes químicos

<sup>1</sup> Acadêmica do Curso de Biologia. Centro de Ciências Naturais e Exatas. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

<sup>2</sup> Acadêmico do Curso de Agronomia. Centro de Ciência Rurais. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. Email: clairofh@gmail.com.

<sup>3</sup> Engenheiro Agrônomo, Professor do Departamento de Biologia. Centro de Ciências Naturais e Exatas. Universidade Federal de Santa Maria. Endereço para correspondência: Avenida Roraima, 1000 - Prédio 16, sala 3130. Bairro Camobi, 97.105-900 - Santa Maria, RS. Email: augusto@smail.ufsm.br.

<sup>4</sup> Químico Ambiental. Universidade Católica de Pelotas. Pelotas, RS. Email patrickoasis182@yahoo.com.br.

produzidos pela própria planta (RICE, 1984). Essas substâncias químicas, que são denominadas de aleloquímicos, quando liberadas no ambiente, estimulam ou inibem a germinação de sementes e/ou o desenvolvimento de plântulas do seu entorno (RODRIGUES e LOPES, 2001).

Segundo Medeiros (1990), atualmente são conhecidas mais de dez mil substâncias fitoquímicas com potencial alelopático, pertencentes aos mais variados grupos químicos. Dentre eles estão os ácidos fenólicos, as cumarinas, os terpenóides, os flavonóides, os alcalóides e os alcalóides cianogênicos.

As formas pelas quais os efeitos alelopáticos desses compostos são pesquisados incluem o isolamento das substâncias químicas por meio de cromatografia, e o uso de extratos brutos alcoólicos ou aquosos, obtidos de partes das plantas. Esses extratos brutos aquosos podem ser obtidos a frio (EBF), onde parte do vegetal, raízes ou folhas, é batido em liquidificador com água destilada, ou a quente. Nesse último caso, que se denomina de extrato bruto de infusão (EBIN) é utilizado água fervente a 100°C que é colocada sobre as partes vegetais picadas, dentro de um copo de Beacker e tampado por mais de 30 minutos. Os efeitos dos produtos potencialmente aleloquímicos são basicamente testados em alface, que é considerada como planta teste. Todavia, análises de extratos brutos de partes de plantas tóxicas ou medicinais, que possuem aleloquímicos, sobre plantas infestantes, como o picão-preto (*B. pilosa* L.) é pouco descrito.

A espécie *B. pilosa* L. é originária da América tropical, com maior ocorrência na América do Sul. Atualmente é uma planta disseminada por todo o território nacional sendo que a maior incidência está nas áreas agrícolas do centro-sul do Brasil, considerada como uma das piores infestantes de culturas anuais (KISSMANN e GROTH, 1995). Apesar da baixa capacidade competitiva das plantas individuais, essa espécie se desenvolve em altas densidades nas áreas cultivadas, o que lhe possibilita grande capacidade competitiva (AKOBUNDU, 1987). Devido a essa grande adaptação chega a produzir cerca de 3000 a 6000 sementes por planta. Além disso, é hospedeira do nematóide *Meloidogyne* que atacam as plantas cultivadas (CARMONA e

VILAS BÔAS, 2001).

Trabalhos apontam para os efeitos de EBIN de plantas medicinais nativas do Rio Grande do Sul, como *Achyrocline satureioidis* (Lam.) DC, *Mikania glomerata* Spreng, *Stevia rebaudiana* Bert sobre a germinação de alface (SOUZA et al., 2005a). Da mesma forma, Souza et al. (2005b) analisaram a atividade alelopática e citotóxica de EBIN de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss.) sobre sementes de alface.

Utilizando EBF de folhas de *Nerium oleander* L. e *Dieffenbachia picta* Schott, que são consideradas plantas tóxicas, Hoffmann et al. (2007) verificaram a atividade alelopática dessas plantas na germinação de sementes e no desenvolvimento das plântulas de *B. pilosa* L.. Igualmente, EBF de raízes, caules e folhas de arroz demonstraram efeitos alelopáticos em *Lactuca sativa* L. e *Heteranthera limosa* Vahl (EBANA et al., 2001). Mazzafera (2003) utilizou extratos etanólicos de *Syzygium aromaticum* (L.) Merril & Perry sobre as sementes de *Raphanus sativus* L., *Lycopersicon esculentum* L., *Triticum aestivum* L., *Lactuca sativa* L., *Impatiens balsamina* e *Crotalaria spetabilis*, para analisar os efeitos alelopáticos desses extratos.

O gênero *Plectranthus* (sin. *Coleus*), pertencente à família *Labiatae*, envolve cerca de 300 espécies com ocorrência natural na África, Ásia e Austrália (HARLEY e REYNOLDS, 1992). *Plectranthus barbatus* é uma erva ou subarbusto com folhas pecioladas, elípticas e aveludadas, popularmente conhecida como boldo-nacional ou boldo-falso, entretanto, comumente pode ser confundida como boldo-do-Chile (*Peumus boldo* Molina - Monimiaceae). A planta boldo-do-Chile é muito rara no Brasil, todavia outras plantas morfológicamente semelhantes são confundidas com o boldo-do-Chile, além da *Plectranthus barbatus*, o boldo-da-terra (*Plectranthus amboinicus* - Lamiaceae). Embora sejam plantas diferentes, o seu uso como medicinal foi consagrado pela tradição popular (IGANCI et al., 2006).

O interesse pelo estudo fitoquímico da espécie *Plectranthus barbatus* foi estimulado pelo amplo uso popular das folhas para tratamento de problemas digestivos. Espécies do gênero *Plectranthus* apresentam capacidade biossintética para produzir

uma variedade de metabólitos secundários, destacando-se, dentre esses, os diterpenos. Barbatusina, ciclobutatusina, barbatusol, plectrina, carioical são diterpenos identificados em *Plectranthus barbatus* que apresentam importância farmacológica e química (ALBUQUERQUE et al., 2007).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi o de analisar o desempenho fisiológico de sementes de *B. pilosa* e *L. sativa* como planta-teste, tratados com EBIN de folhas secas de *Plectranthus barbatus*, assim como verificar o efeito alelopático dessa planta considerada medicinal.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Genética Vegetal, do Departamento de Biologia/CCNE/UFSM utilizando sementes de picão-preto (*B. pilosa* L.) e de alface (*L. sativa* L.) cv Regina. Água destilada (100 mL) fervente a 100°C foi colocada sobre 100 g de folhas secas de *Plectranthus barbatus* dentro de erlenmeyer. O frasco foi tampado pelo tempo de 30 minutos constituindo-se da solução estoque (p/v). As diferentes concentrações utilizadas foram obtidas pelas diluições desse extrato bruto (100%) atingindo as concentrações de 25; 50; 75% (v/v), além da testemunha com água destilada, como controle negativo. Utilizou-se igualmente o controle positivo. Para tanto, semeou-se 1200 sementes de *B. pilosa* L. em quatro repetições, divididas em 6 caixas de gerbox contendo 50 sementes, expostas a germinação por quatro dias em câmara de crescimento do tipo Mangeldorf e após aplicou-se o herbicida Roundup (Glyphosate) na dose de 20 mL/L, obtendo-se com isso um controle de 98%. Os testes de qualidade fisiológica de sementes foram realizados conforme as seguintes metodologias:

- Teste de germinação (G) - foi conduzido com 1200 sementes de *B. pilosa* L. e *L. sativa* L. divididas em quatro repetições de 300 sementes semeadas em seis caixas de gerbox, utilizando-se como substrato papel do tipo germitest previamente umedecido com os extratos aquosos no volume de 10 mL, o que perfaz 10x o peso do papel que recobre o gerbox. As caixas de gerbox foram colocadas em estufa do tipo Mangeldorf na temperatura de 25°C±2°. Os resultados foram determinados em porcentagem de

sementes germinadas aos sete dias após semeadura. - Primeira contagem da germinação (PCG) - realizado conjuntamente com o teste de germinação aos quatro dias após semeadura. Os resultados foram determinados em porcentagem de sementes germinadas.

- Índice de velocidade de germinação (IVG) - determinado pela contagem diária das sementes germinadas, sendo que os valores lidos foram colocados na seguinte fórmula:  $IVG = (G_1 - G_0)/N_1 + (G_2 - G_1)/N_2 + \dots + (G_n - G_{n-1})/N_n$ ; onde  $G_0$  é a contagem das sementes germinadas no primeiro dia,  $G_1$  no segundo dia, ...,  $G_n$  no enésimo dia,  $N_1$  é o primeiro dia após semeadura,  $N_2$  o segundo dia, ...,  $N_n$  o enésimo dia, segundo Vieira e Carvalho (1994).

- Comprimento da parte aérea e das raízes das plântulas - obtido no final do teste de germinação das sementes (POPINIGIS, 1985) e os resultados expressos em mm.

Os testes foram realizados no delineamento totalmente casualizados, as médias foram analisadas pelo teste de Tukey a 5% e submetidas a análise de regressão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão demonstrados os efeitos da EBIN de *Plectranthus barbatus* sobre a porcentagem de germinação (G) e a primeira contagem da germinação (PCG) de sementes de *B. pilosa* L. e *L. sativa* L. Observa-se que a porcentagem da G (Figura 1A) decresce com o aumento da concentração dos extratos aquosos de forma linear, para ambas sementes das espécies testadas, evidenciando o aspecto fitotóxico desses extratos.

Para a primeira contagem da germinação verifica-se que os efeitos do EBIN de *Plectranthus barbatus* diferiram entre as sementes (Figura 1B). Para *L. sativa* L. o aumento da concentração dos extratos reduziu a porcentagem da PCG linearmente, demonstrando fitotoxicidade. Para *B. pilosa* L., na concentração de 25% do EBIN já se observa redução significativa da PCG, sendo que as concentrações de 50, 75 e 100% não diferiram entre si. Isso evidencia um efeito fitotóxico maior dos EBIN de *Plectranthus barbatus* para a primeira contagem

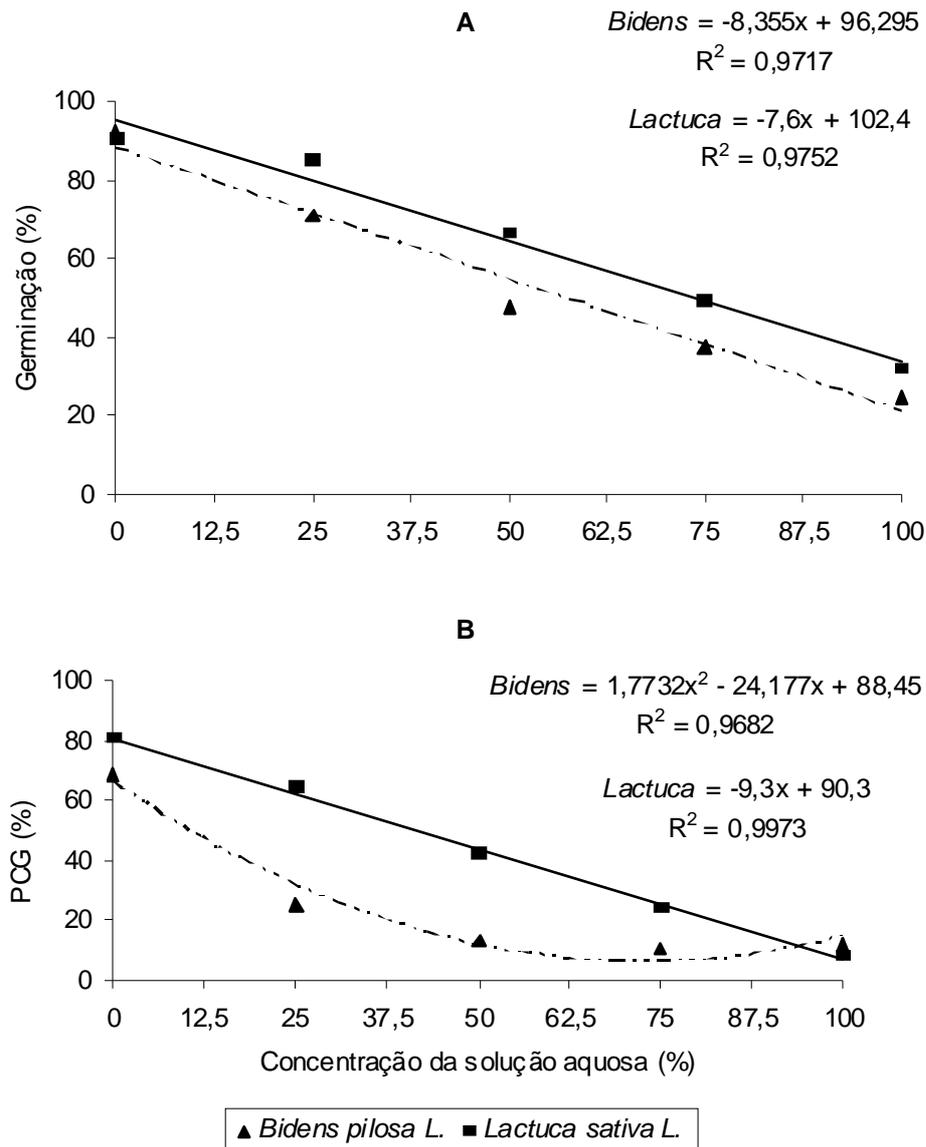


Figura 1 - Germinação (A) e primeira contagem da germinação (PCG) de sementes de *Bidens pilosa* L. e *Lactuca sativa* L. tratadas com solução aquosa de *Plectranthus barbatus* nas concentrações 0, 25, 50, 75 e 100 % (v/v). Santa Maria, RS. 2009.

da germinação das sementes de *B. pilosa* L., do que sobre as sementes de *L. sativa* L., pois na concentração de 25% o efeito já foi observado.

Redução nas porcentagens de G e PCG de *B. pilosa* L. foram encontrados por Azambuja et al. (2008) ao utilizarem EBIN de folhas secas de *P. amboinicus* Lour SPr - Lamiaceae (boldo-miúdo). Com esses resultados semelhantes é possível constatar que as duas as espécies de *Plectranthus* possuem os mesmos componentes químicos capazes de alterar o vigor das sementes testadas.

O efeito fitotóxico do EBIN de *Plectranthus*

*barbatus* demonstrado pela redução da G e da PCG evidencia que a mobilização de reservas nutritivas foi provavelmente afetada influenciando diretamente a emissão do eixo radícula-epicótilo. Pode-se igualmente presumir que as alterações na G e na PCG ocorreram devido a alterações na permeabilidade das membranas, na transcrição e tradução do DNA, na conformação das enzimas e receptores, ou ainda, pela combinação desses fatores no processo de germinação das sementes (FERREIRA e AQUILA, 2000).

Extratos de várias outras plantas, consideradas

medicinais, como *Bauhinia candicans* Benth - Caesalpiniaceae e *Luehea divaricata* Mart. Et Zucc - Tiliaceae também reduziram a G e a PCG de sementes de *L. sativa*, demonstrando seus efeitos potencialmente alelopáticos (SOUZA et al., 2005a).

Na Figura 2 estão representados os resultados do EBIN de *Plectranthus barbatus* sobre o índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *L. sativa* L. e *B. pilosa* L. Observa-se que os efeitos são semelhantes para as duas sementes das espécies testadas, embora verifique-se que o efeito maior de redução ocorreu nas sementes de *B. pilosa* L.

Alterações que ocorrem tanto na curva de germinação como no tempo de velocidade de germinação indicam interferências nas reações metabólicas que culminam na germinação (BEWLEY e BLACK, 1994). A redução de ambos os parâmetros citados também foram verificados por Hoffmann et al. (2007) quando submeteram sementes de *L. sativa* L. e *B. pilosa* L. a extratos aquosos de folhas de *Nerium oleander* L. e *Dieffenbachia picta* Schott. Da mesma forma, maior período de tempo para a germinação de aquênios de *L. sativa*, foram observados por Maraschin-Silva e Aquila (2006), quando analisaram o potencial alelopático das

espécies *Cecropia pachystachya*, *Peltophorum dubium*, *Psychotria leiocarpa*, *Sapium glandulatum* e *Sorocea bonplandii*.

Reduções no tempo de germinação, medido pelo IVG, podem evidenciar que a presença de aleloquímicos no EBIN inibiu a velocidade de desdobramento e translocação dos componentes nutritivos do endosperma para o embrião. Dentre os componentes químicos isolados em *Plectranthus barbatus* está o diterpeno do tipo abietano denominado Barbatulina (ALBUQUERQUE et al., 2007) que apresenta propriedade farmacológicas e químicas. Presumivelmente, este composto interferiu nas reações metabólicas nas sementes de *L. sativa* L. e *B. pilosa* L.

Verifica-se ainda que o comprimento da parte aérea das plântulas de *B. pilosa* L. foi reduzido a partir da concentração de 25% apesar de não diferir das concentrações de 50 e 75% (Figura 3A). A concentração de 100% foi a que provocou maior redução, diferindo de todas as demais.

Para a parte aérea de *L. sativa* L. observa-se que houve redução do comprimento com o incremento da concentração do EBIN. As concentrações de 25 e 50% não diferiram entre si, mas diferiram das demais

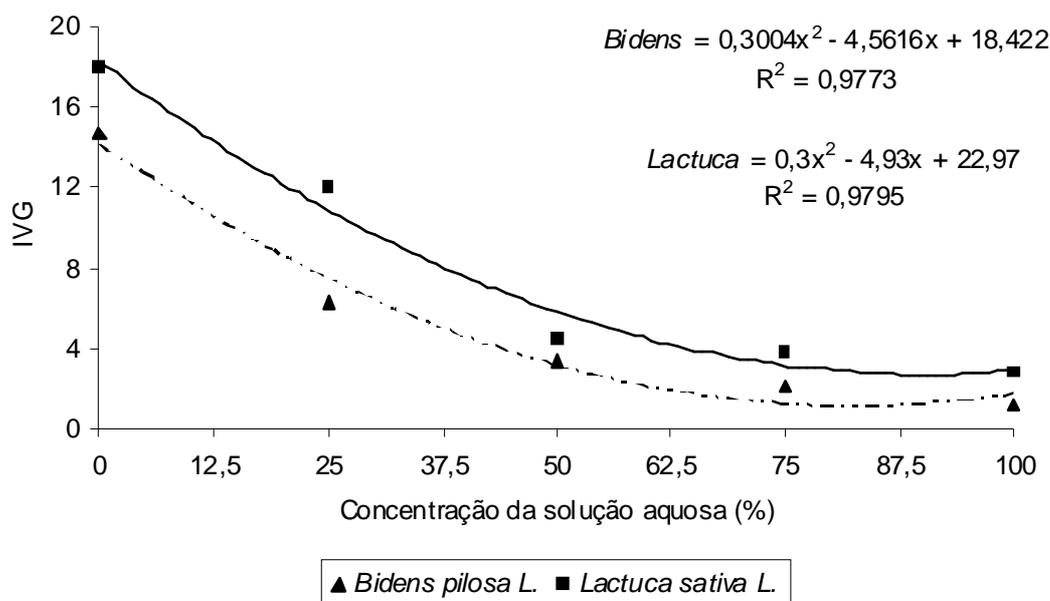


Figura 2 - Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Bidens pilosa* L. e *Lactuca sativa* L. tratadas com solução aquosa de *Plectranthus barbatus* nas concentrações 0, 25, 50, 75 e 100 % (v/v). Santa Maria, RS. 2009.

e da testemunha. A de 75% diferiu de todas, assim como a de 100%.

O comprimento da raiz das plântulas de *L. sativa* L. e *B. pilosa* L. foi reduzido a partir da concentração de 25% de EBIN de *Plectranthus barbatus* (Figura 3B). Para *B. pilosa* L. as concentrações de 50 e 75% reduziram significativamente o comprimento da raiz, embora não tenham diferido entre si. A concentração de 100% foi a que provocou maior redução. Para *L. sativa* L. as concentrações de 50, 75 e 100% não diferiram entre si, mas diferiram das demais. Esses dados evidenciam que tanto das plântulas de *B. pilosa* L. quanto as de *L. sativa* L. mostraram-se sensíveis as mesmas

concentrações de EBIN de *Plectranthus barbatus*, evidenciando, mais uma vez, o efeito alelopático em baixas concentrações.

Reduções no comprimento do hypocótilo e das raízes de plântulas de *L. sativa* também foram observados por Turk et al. (2003) quando as sementes foram submetidas a extratos aquosos de alfafa. Os autores verificaram que o extrato bruto da mistura das partes das plantas de alfafa (folha+caule+flores+raízes) provocou efeitos mais significativos do que cada um dos extratos separadamente. Da mesma forma, Hoffmann et al. (2007) observaram que o comprimento da raiz de *L. sativa* L. e *B. pilosa* L. foi reduzido por ação de

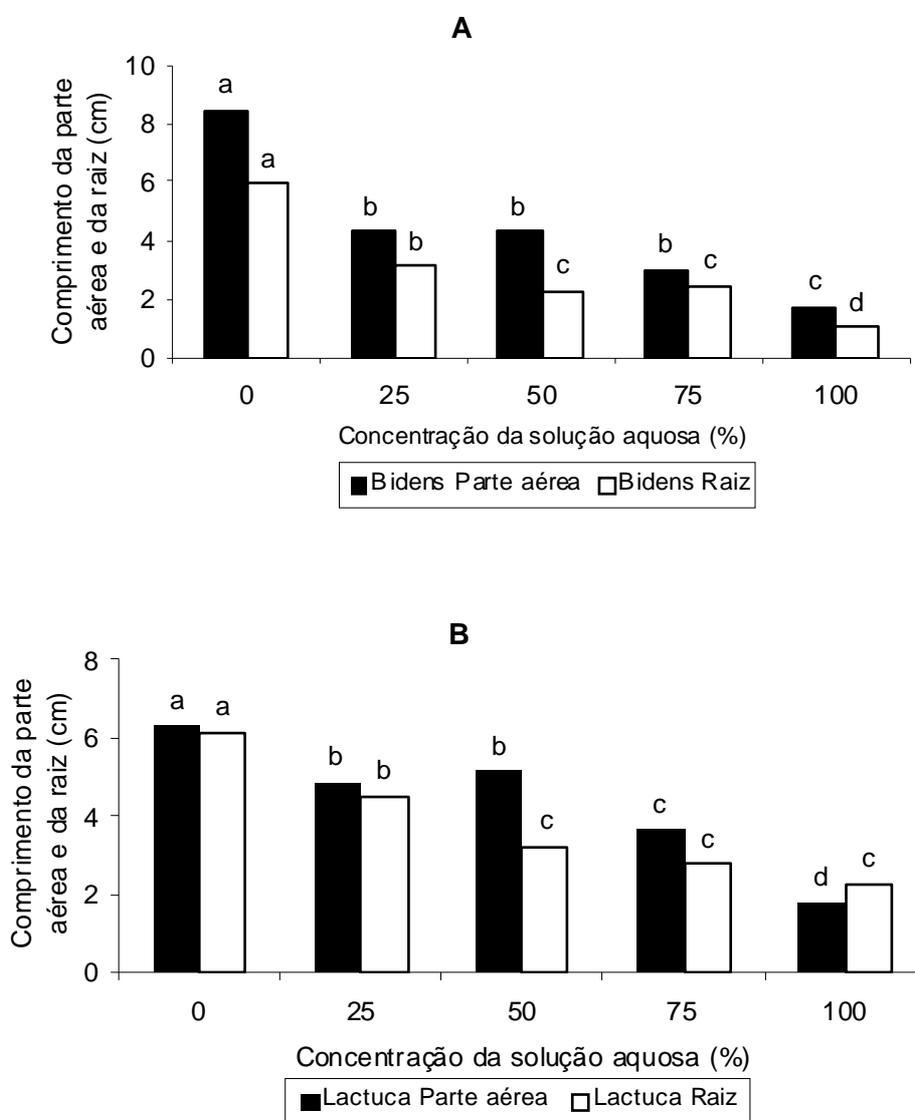


Figura 3 - Comprimento da parte aérea e de raiz de plântulas de *Bidens pilosa* L. (A) e *Lactuca sativa* L. (B) cujas sementes foram tratadas com solução aquosa de *Plectranthus barbatus* nas concentrações 0, 25, 50, 75 e 100 % (v/v). Santa Maria, RS. 2009.

extratos de folhas de *Nerium oleander* L. e de *Dieffenbachia picta* Schott.

O alongamento da parte aérea, assim como das raízes, é dependente das divisões celulares, da formação do câmbio e dos vasos xilemáticos e essas estruturas são dependentes da partição de nutrientes pela plântula. Se, no caso em estudo, os extratos aquosos utilizados reduziram a parte aérea, pressupõem-se que afetaram diretamente alguma dessas estruturas citadas, haja vista que o citronelol, derivado da casca de Citrus, demonstrou potencial lesivo, alterando as estruturas ontogenéticas das plântulas de amendoim-bravo, reduzindo drasticamente a largura do câmbio vascular e o diâmetro do xilema, o que reduziu a parte aérea (GUSMAN et al., 1994).

O efeito alelopático dos componentes diterpenóides presentes em *Plectranthus barbatus* foi estudado também no controle de fungos patogênicos. Silva et al. (2006) comentam que extratos etanólicos de folhas de *Plectranthus barbatus* reduziram em 92,7% o crescimento do fungo *Glomerella cingulata* que causa doenças pós colheita em frutos.

## CONCLUSÕES

O desempenho fisiológico de sementes de *Bidens pilosa* e de *Lactuca sativa* é afetado negativamente pelos extratos brutos de infusão de *Plectranthus barbatus*, o que demonstra seu efeito alelopático.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKOBUNDU, I. O. **Weed science in the tropics: principles and practices**. Norwich : J. Wiley, 1987. 522 p  
 ALBUQUERQUE, R. L. et al. Diterpenos tipo abietano isolados de *Plectranthus barbatus* Andrews. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.8, p.1882-1886, 2007.  
 AZAMBUJA, N.; HOFFMANN, C. E. F.; NEVES, L. A. S. Alelopatia de boldo-miúdo (*Plectranthus amboinicus* Lour Spr - Lamiaceae) na germinação de sementes e no desenvolvimento de plântulas de picão-preto (*Bidens pilosa* L. - Asteraceae). In:

CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 17., 2008, Pelotas, **Resumos....** Pelotas: PRPGP/UFPEL, 2008, CDRom.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

CARMONA, R.; VILAS BÔAS, H. D. Dinâmica de sementes de *Bidens pilosa* no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.3, p.457-463, 2001.

EBANA, K.; YAN, W.; DILDAY, R. H. Variation in the allelopathic effect of rice with water soluble extracts. **Agronomy Journal**, Madison, v.93, p.12-16, 2001.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.12 (edição especial), p.175-204, 2000.

GUSMAN, A. B.; PITELLI, R. A.; DIAS, S. M. Efeito do citronelol sobre a germinação e desenvolvimento do amendoim bravo (*Euphorbia heterophila* L.) II. **Semina: Ciência Agrícola**, Londrina, v.15, n.1, p.14-22, 1994.

HARLEY, R. M.; REYNOLDS, T. (eds.) **Advances in Labiatae Science**. Great Britain: Royal Botanic Gardens Kew, 1992. 473p.

HOFFMANN, C. E. F. et al. Atividade alelopática de *Nerium oleander* L e *Dieffenbachia picta* Schott em sementes de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.6, n.1, p.1-21, 2007.

IGANCI, J. R. V. et al. Efeito dos extratos aquosos de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e o índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.79-82, 2006.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas: plantas superiores**. São Paulo: BASF, 1995. v.3.

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. **Acta Botânica Brasílica**, Brasília, v.20, n.1, p.61-69, 2006.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato aquoso de cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.26, p.231-

238, 2003.

MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Hort Sul**, Pelotas, v.1, p.27-32, 1990.

POPINIGIS, F. **Fisiologia de sementes**. Brasília: AGIPLAN, 1985. p.115-131.

RODRIGUES, F.C.M.P.; LOPES, B.M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v.8, p.130-136, 2001.

RICE, E. L. **Allelopathy**. Orlando: Academic Press. 1984. 422p.

SILVA, M.B. et al. Potential use do *Plectranthus barbatus* ethanolic extract to control phytopathogenic fungi. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.8, n.especial, p.78-79, 2006.

SOUZA, S. A. M. et al. Efeito dos extratos aquosos de plantas medicinais nativas do Rio Grande do Sul sobre a germinação de sementes de alface. **UEPG - Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v.11, n.3/4, p.29-38, 2005a.

SOUZA, S. A. M. et al. Atividade alelopática e citotóxica do extrato aquoso de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss). **UEPG - Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v.11, n.3/4, p.7-14, 2005b.

TURK, M. A.; SHATNAWI, M. K.; TAWAHA, A. M. Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and growth of alfafa. **Weed Biology and Management**, Kyoto, v.3, p.37-40, 2003.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor de sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164 p.