

**ALELOPATIA E GENOTOXICIDADE DA ERVA DE SANTA MARIA SOBRE
SEMENTES *Lactuca sativa* L. e RAÍZES *Allium cepa* L.**

**ALLELOPATHY AND GENOTOXICITY OF SANTA MARIA HERB ON
SEEDS *Lactuca sativa* L. and ROOTS *Allium cepa* L.**

Thatielen Furini*1; Suellen Cristina Santos Furini2; Joelson de Oliveira Barros3; Samiele Camargo de Oliveira Domingues4; Isane Vera Karsburg5;
1,2,3,4 e 5 Universidade do Estado do Mato Grosso/MT;

*Autor correspondente: e-mail:thatyfurini2003@hotmail.com

RESUMO

A presente pesquisa teve por intuito avaliar o potencial alelopático e genotóxico do extrato aquoso da Erva de Santa Maria sobre sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) e raízes de cebola (*Allium cepa* L.), em diferentes concentrações. O bioensaio de alelopatia foi conduzido em BOD (25°C), e fotoperíodo de 12 horas, com extrato aquoso nas concentrações de 0, 3, 6, 12, e 24 g/L, obtido por infusão de folhas frescas e um controle negativo de água destilada. Os resultados obtidos variaram, sendo que algumas das concentrações não se diferiram estatisticamente do controle, exceto no IVG, o qual apresentou médias superiores, demonstrando um efeito positivo. Os dados apresentados ao longo da pesquisa, evidenciaram que as infusões da Erva de Santa Maria apresentam efeito alelopático sobre sementes de alface, e efeito genotóxico sobre raízes de cebola quando elevadas as concentrações dos extratos para a preparação do chá.

Palavras-chave: Divisão celular. Germinabilidade. Mutagênese.

ABSTRACT

The present research aimed to evaluate the allelopathic and genotoxic potential of the aqueous extract of Santa Maria herb on lettuce seeds (*Lactuca sativa* L.) and onion roots (*Allium cepa* L.), in different concentrations. The allelopathy bioassay was conducted in BOD (25°C), and photoperiod of 12 hours, with aqueous extract in concentrations of 0, 3, 6, 12, and 24 g / L, obtained by infusing fresh leaves and a negative control of distilled water. The results obtained varied, being that some of the concentrations did not differ statistically from the control, except in the IVG, which presented superior averages, demonstrating a positive effect. The data presented throughout the research, showed that the infusions of the Santa Maria herb have an allelopathic effect on lettuce seeds, and a genotoxic effect on onion roots when the concentrations of extracts for the preparation of tea are high.

Key words: Cell division. Germinability. Mutagenesis.

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas para verificação de potenciais alelopáticos tem se tornado cada vez mais comum [1], pois as plantas fitoterápicas vêm se mostrando promissoras e com probabilidade de inúmeras aplicações clínicas [2].

As espécie *Chenopodium ambrosioides* L., popularmente conhecida como Erva de Santa Maria, uma planta da família Amaranthaceae, nativa da América, originária do México, sendo encontrada em todos os países de clima temperado e tropical, apresenta hábito herbáceo, podendo chegar a até um metro de altura, caule piloso e sulcado, folhas inteiras e simples, sendo as superiores sésseis, e as inferiores pecioladas, de dimensões variadas e providas de pêlos [3].

A referida espécie apresenta várias aplicações e está entre os fitoterápicos mais utilizados pelos povos tradicionais no Brasil [4] e no mundo, principalmente no controle e tratamento de parasitas [2]. Sendo vista como alternativa para contornar o problema da resistência apresentada pelos parasitas em relação aos fármacos alopáticos, ou seja, os anti-helmínticos [4], também apresenta propriedades vermífugas [5], e inseticida [6], bem como toxicidade quando administrada em altas doses, independente da via de administração, porém isso depende da espécie animal à qual é administrada [7].

Em pesquisa empreendida [8], aponta que os compostos que apresentam atividade alelopáticas, são muitas vezes utilizados na medicina popular na cura de doenças por meio dos chás e infusões, porém seus efeitos genotóxicos necessitam de melhores investigações. Verifica-se assim, que a utilização das plantas é supervalorizada na fitoterapia tradicional pelos seus benefícios medicinais, contudo, é necessário conhecer a dose certa e a parte empregada da planta, para além de suas propriedades terapêuticas, pois existem plantas que são altamente tóxicas, mesmo quando ingeridas em pequenas doses [9].

Nessa perspectiva [10] aponta que os bioensaios vegetais têm demonstrado eficácia na ação de compostos químicos derivados do metabolismo secundário das plantas. Já para [11], a resistência ou tolerância aos compostos químicos podem atuar desencadeando efeitos alelopáticos ou citotóxicos podendo ser mais ou menos específica de acordo com as espécies, algumas mais sensíveis que outras, como é o caso da alface.

O sistema teste vegetal de *A. cepa* (cebola) mostrou-se como excelente bioindicador para o primeiro screening da genotoxicidade de plantas medicinais, devido ao baixo custo, a confiabilidade e concordância com outros testes de genotoxicidade, auxiliando os estudos de prevenção de danos à saúde humana [12]. Diante de tais argumentos, o objetivo foi demonstrar o potencial alelopático na germinação de sementes de alface e genotoxicidade de raízes de cebola, após exposições em diferentes concentrações do extrato aquoso de Erva de Santa Maria.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A presente pesquisa foi realizada no Laboratório Didático I e no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT. Para realização deste estudo foi utilizado como amostra, folhas da *C. ambrosioides* L. (Erva de Santa Maria), que foram coletadas a campo no município de Alta Floresta-MT. Os organismos testes utilizados foram sementes de *L. sativa* L. (alface) e bulbos de *A. cepa* L.

(cebola). Tanto as cebolas quanto as sementes de alface (marca FELTRIN[®]), tratadas com 0,15% de Captan (Captan 750), foram adquiridas no comércio local.

O extrato aquoso utilizado foi preparado com folhas frescas da planta *C. ambrosioides* L. coletadas a campo. Foram utilizados cinco tratamentos: 0, 3, 6, 12, e 24 g/L e água destilada. Primeiramente foi feito o extrato bruto utilizando 24 g/L de massa fresca, triturada em almofariz, em seguida o material foi transferido para um Becker com capacidade de 1L e acrescentado água a 100°C quantidade suficiente para (q.s.p) 1.000mL. As metodologias para as concentrações seguiram o uso popular com modificações. O material ficou em repouso até o completo resfriamento, sendo filtrados em peneira descartáveis. Após a infusão, o extrato aquoso foi diluído para a obtenção das concentrações, sendo posteriormente utilizados para os experimentos.

Para a avaliação de alelopatia foi utilizado como organismo-teste sementes de alface. Os tratamentos testados foram os seguintes: T1 – 24 g/L v/v concentrado; T2 – 12 g/L v/v concentrado; T3 – 6 g/L v/v concentrado; T4 – 3 g/L v/v concentrado; T5- Controle negativo - germiteste umedecido com água destilada.

Primeiramente as gerbox foram desinfetadas com hipoclorito comercial a 2,5%. As sementes foram colocadas em gerbox utilizando-se como substrato papel filtro (autoclavado) e umedecido, após foram colocadas em câmara de germinação tipo BOD, à temperatura de 25°C, com 12 horas de claro e 12 horas escuro. As contagens de sementes germinadas foram feitas diariamente, no mesmo horário, durante sete dias.

O índice de velocidade de germinação IVG seguiu [13], onde $IVG = G1, G2, \dots Gn = \text{número de plântulas normais germinadas a cada dia} / N1, N2, \dots Nn = \text{número de dias decorridos da sementeira a primeira e última contagem}$.

A porcentagem de germinação na primeira contagem e germinabilidade foi calculada com o uso da seguinte fórmula: $G = (N/A) \times 100$ sendo N o número total de sementes germinadas e A o número total de sementes colocadas para germinar. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições de 40 sementes seguindo as Regras de Análise de Sementes [14].

Para avaliação da genotoxicidade, foram utilizados como organismo teste bulbos de cebola adquiridos em comércio local. Os tratamentos foram os seguintes: T1 – 24 g/L v/v concentrado; T2 – 12 g/L v/v concentrado; T3 – 6 g/L v/v concentrado; T4 – 3 g/L v/v concentrado; T5- Controle negativo com água destilada.

Para os testes foram utilizados cinco bulbos para cada concentração, sendo que quatro desses foram colocados nas infusões e um em água destilada (controle negativo). Os bulbos foram colocados em copos plásticos descartáveis (50mL) para o enraizamento das cebolas. A infusão foi trocada a cada 24 horas. Após 72 horas as radículas com aproximadamente 1-35 mm de comprimento foram medidas com paquímetro digital para obtenção da média de crescimento e fixadas em etanol-ácido acético (3:1) por 24 h. Posteriormente, elas foram conservadas no refrigerador até o uso.

A análise citogenética foi realizada segundo a técnica de esmagamento [15], hidrolisadas em HCl5N por dez minutos a $\pm 26^{\circ}\text{C}$. Em seguida foram lavadas em água destilada e coradas com orceína acética 2%. O índice mitótico (IM) foi obtido pela seguinte equação [16]: $\text{IM} = (m/T) \times 100$ sendo que m = número de células em mitose; T = número total de células.

Foram confeccionadas 10 lâminas por tratamento e analisadas 300 células de cada lâmina, de cada bulbo foram confeccionadas duas lâminas, totalizando 3.000 células por concentração. As lâminas foram avaliadas observando-se as células em intérfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase, com auxílio de microscópio ótico com a objetiva de 40X. Foi determinado o índice mitótico (IM) e calculado os valores médios do número de células que estão em cada uma das fases do ciclo celular.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância por meio do programa SISVAR[®] [17], e suas médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As diferentes infusões do chá da Erva de Santa Maria utilizados na germinação de sementes de alface, apresentaram efeito alelopático quando aumentadas suas concentrações (Tabela 1). O efeito alelopático, segundo [18], é classificado em dois tipos: autotoxicidade caracterizado como mecanismo intraespecífico de alelopatia, que ocorre quando uma espécie de planta libera uma substância química específica que inibi ou retarda a germinação ou crescimento da própria espécie, e a heterotoxicidade que ocorre quando a substância liberada tem efeito fitotóxico afetando a germinação e o crescimento de plantas de outra espécie.

Tabela 1. Primeira contagem (PC), Percentual de germinação (%G) e IVG de plântulas de *Lactuca sativa* L. germinadas sob diferentes concentrações da infusão de *Chenopodium ambrosioides* L.

Concentrações (g/L)	PC (%)	%G	IVG (%)
24	18,00 c	11,00 c	4,06 d
12	34,50 b	29,00 c	9,97 c
6	47,00 b	43,50 b	15,17 b
3	73,50 a	69,00 a	23,69 a
Controle negativo	68,50 a	62,00 a	19,21 b
CV	16,31	14,60	14,21

Média seguida pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quando aumentadas as concentrações das infusões para 6, 12 ou 24 g/L, as porcentagens das variáveis PC, %G e IVG foram reduzidas diferindo-se do controle negativo e do tratamento de 3 g/L. Nota-se, também, um efeito mais agressivo nos parâmetros avaliados quando utilizada a concentração de 24g g/L (18 % na PC, 11 % na %G e 4,06% no IVG) (Tabela 1). Em relação ao efeito no IVG, PC e percentual de germinação, foi observado que à medida que as concentrações aumentavam, maior o efeito de alelopatia (tabela 1). O controle negativo apresentou 68,5 % de sementes germinadas na variável primeira contagem (PC), 62 % de porcentagem de germinação (%G) e 19,21 % no índice de velocidade de germinação (IVG). Os resultados obtidos das variáveis PC, %G e IVG mostrou que a concentração de 3 g/L não se diferiu estatisticamente do controle, exceto no IVG, o qual apresentou médias superiores, demonstrando um efeito positivo do chá nesta infusão.

Pesquisas demonstram que a planta que apresenta alelopatia, as funções mais prejudicadas são assimilação de nutrientes, crescimento, concentração de hormônios, relações hídricas, condução de água e nutrientes, fotossíntese, respiração, síntese de proteínas, permeabilidade da membrana celular, material genético, alterações no DNA e RNA, e a atividade enzimática [19]. Sendo a inibição da germinação das sementes e o crescimento inicial das plântulas, a etapa mais afetada nas interações alelopáticas [20]. Os aleloquímicos, nas plantas receptoras, podem vir a interferir em diversas vias do metabolismo do organismo, alterando, por exemplo, o processo de divisão celular, pois a redução do crescimento de plantas na presença destes compostos é associada a uma forte inibição da mitose e/ou rompimento da estrutura de organelas como núcleo e mitocôndrias [21].

Quando avaliado o efeito alelopático do extrato aquoso da Erva de Santa Maria na germinação do tomateiro pelos autores [22], resultados semelhantes foram encontrados em relação ao presente estudo, onde conforme o aumento das concentrações observou-se uma redução na velocidade de germinação.

Em outros estudos como em [23], o qual analisaram o efeito genotóxico do extrato bruto e diluições de 25% e 50% da Erva de Santa Maria em células de *Drosophila melanogaster*, efeitos tóxicos também foram encontrados. No experimento, os autores constataram uma provável ação recombinação gênica em virtude do aumento de manchas gêmeas nas moscas analisadas. Quando em associação com a doxorrubicina houve uma redução das manchas mutantes, sugerindo um provável efeito protetor da erva, no entanto, a redução do número de moscas nos tratamentos com os extratos demonstrou um possível efeito citotóxico.

De acordo com [24], avaliaram o potencial de controle da Erva de Santa Maria em nematóides inoculados em plantas de soja. A priori, obtiveram uma redução significativa na população dos nematóides, contudo, foi observado fito toxidez nas plantas analisadas, sugerindo uma provável ação tóxica desta erva nestas plantas de soja.

Portanto é possível inferir pelos dados obtidos, que a melhor dosagem, a qual não interferiu nos índices de germinação, e na velocidade de germinação foi o tratamento que utilizou 3 g/L, sendo similar ao tratamento controle com água destilada. Sementes de *L. sativa* L. é considerada planta-teste mais comum para examinar alelopatia em decorrência de sua sensibilidade aos metabólitos secundários que funcionam como aleloquímicos [11].

Em relação ao número de células em divisão mitótica normais (NCDMN) (Tabela 2), analisadas os meristemas apicais das raízes de cebola, novamente o efeito mais agressivo foi constatado na concentração de 24 g/L. Enquanto, que no controle negativo foram encontradas 105 células em divisão, no tratamento de 24 g/L apenas uma célula foi contabilizada.

Tabela 2. Taxas (%) de prófase, metáfase, anáfase, telófase em células de cebola exposta a concentrações de extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* L.

Concentrações (g/L)	NCDMN	PRO	MET	ANA	TEL
24	01	100	0	0	0
12	66	87,88	4,54	1,51	6,06
6	193	58,03	11,39	6,73	23,83
3	56	16,07	39,28	14,28	30,35
Controle Negativo	105	33,33	26,67	14,28	25,71

Média seguida pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NCDMN= Número de células em divisão mitótica normais; PRO= prófase; MET= metáfase; ANA= anáfase; TEL= telófase; IM= índice mitótico.

Tal resultado é fundamental para demonstrar a toxicidade desta planta, quando utilizada em altas dosagens, podendo ser extremamente prejudicial ao ser humano, pois o sistema teste vegetal de *A. cepa* L. é um excelente bioindicador para o primeiro screening da genotoxicidade de plantas medicinais, pelo seu baixo custo, confiabilidade e concordância com outros testes de genotoxicidade, auxiliando os estudos de prevenção de danos à saúde humana [12].

A concentração de 6 g/L apresentou maior NCDMN, 193 células, quando comparados aos demais tratamentos de 12 e 3 g/L em que foram encontrados 66 e 56 células respectivamente. Nas concentrações de 3 e 6 g/L, assim como no controle negativo, foram observadas maiores porcentagens de células em todas as fases da divisão celular, prófase, metáfase, anáfase e telófase.

Na tabela 03, estão contidos os resultados referentes às porcentagens de células anormais (%CA), em cada uma das fases mitóticas, em relação ao número total de células analisadas (3.000 células por tratamento).

Uma baixa %CA foi identificada em todos os tratamentos. Em alguns elementos foram encontradas algumas anormalidades, bem como metáfases e anáfases com cromossomos isolados, anáfase com retardo da separação das cromátides, presença de micronúcleo em célula interfásica e telófase com cromátide isolada.

Tabela 3. Taxas (%) de intérfase, prófase, metáfase, anáfase, telófase anormais em células de cebola exposta a concentrações de extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* L.

Concentrações (g/L)	NTCA	INT	PRO	MET	ANA	TEL
24	3000	0,1	0	0	0	0
12	3000	0,27	0	0,03	0,13	0
6	3000	0,1	0,07	0,1	0,2	0
3	3000	0,13	0	0	0	0
Controle Negativo	3000	0,03	0,07	0,6	0,13	0,03

Média seguida pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NTCA= Número total de células analisadas; INT= intérfase; PRO= prófase; MET= metáfase; ANA= anáfase; TEL= telófase.

Apesar do controle negativo amostrar a maior quantidade de %CA, deve-se ressaltar o fato que, quando aumentadas às concentrações dos extratos dos chás da Erva de Santa Maria, ocorreu, conseqüentemente, um decréscimo no IM. Quando analisados os valores do IM os tratamentos de 3, 6 e 12 g/L foram similares estatisticamente, exceto para a concentração de 24 (g/L) o qual diferiu-se das demais infusões (Tabela 04).

Tabela 4. Número de células em divisão mitótica e índice mitótico em células de raiz de *Allium cepa* L. exposta a concentrações de extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* L.

Concentrações (g/L)	NCDM	IM (¹) (%)
24	01	0,03 c
12	66	2,20 ab
6	193	6,43 a
3	56	1,87 ab
Controle Negativo	105	3,50 ab
CV (%)	-	32,4

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Dados transformados para $(x+1)^{0,5}$. Concentração de extratos; NCDM= Número de células em divisão mitótica; IM = índice mitótico.

Em linfócitos humanos efeitos genotóxicos foram observados decorrentes da decocção e infusão do extrato da planta de *C. ambrosioides* L. O aumento foi significativo na porcentagem de células com aberrações cromossômicas e na frequência de permutas nas cromátides irmãs. Observou-se também uma diminuição nos índices mitóticos [25].

Quando avaliadas as infusões em relação ao crescimento das raízes de cebola, detectaram-se efeitos alelopáticos, assim como na germinação de sementes de alface quando em altas concentrações.

Para o controle negativo a maior medida foi de 26,8mm, enquanto, que nos tratamentos de 3, 6, 12 e 24 g/L, os valores foram de 19mm, 11,76 mm, 9,74mm e 8,24mm respectivamente. Os resultados corroboram com os já citados anteriormente em relação à germinação em *L. sativa* L. (Tabela 05).

Tabela 5. Comprimento da maior e menor raiz de *Allium cepa* L. exposta ao extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* L.

Concentrações (gL ⁻¹)	Maior (mm)	Menor (mm)
Controle	26,80 a	4,96 a
3	19,00 b	4,40 ab
6	11,76 c	2,80 ab
12	9,74 c	2,28 b
24	8,24 c	3,26 ab
CV	22,95	38,89

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Os resultados encontrados nos experimentos avaliados nos sistemas testes *A. cepa* L. e *L. sativa* L. reforçam a ideia, da importância da utilização de chás de plantas medicinais em suas concentrações ideais, evidenciando que altas concentrações podem ser tóxicas. Este resultado é um alerta a população, que devido à grande demora dos sistemas de saúde aliados a outras questões sociais e educacionais, levam as pessoas a praticarem a automedicação, incluindo o uso de fitoterápicos [26].

É importante saber, que o uso de plantas medicinais classificado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, caracteriza como medicamentos fitoterápicos àqueles em que a matéria-prima é exclusivamente vegetal e sua eficácia e riscos são conhecidos e caracterizados [26], diferentemente dos chás preparados de forma caseira sem o conhecimento prévio de seus reais efeitos.

4. CONCLUSÕES

Concluiu-se que as infusões da Erva de Santa Maria apresentam efeito alelopático sobre sementes de alface e também efeito genotóxico sobre raízes de cebola quando elevadas as concentrações dos extratos para a preparação do chá. Além disso, em dosagens baixas os resultados reforçam a ideia do uso correto da concentração em chás obtidos de plantas medicinais auxiliando no tratamento contra doenças, contudo altas concentrações podem ser

tóxicas para o ser humano, desta forma a concentração de 3g/L, é a mais indicada, já que a mesma não causou danos à germinação, bem como, na divisão celular.

5. AGRADECIMENTOS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) – Cod de Financiamento 001.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] MANO, A.R.O. Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de cumaru (*Amburana cearensis* S.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface, picão-preto e carrapicho. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006
- [2] OLIVEIRA, L.S.S.; FERREIRA, F.S.; BARROSO, A.M. Erva de Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides* L.): Aplicações clínicas e formas tóxicas. JBCA – Jornal Brasileiro de Ciência Animal, v.13, n.7, pp. 464 – 499, 2014.
- [3] PACIORNIK, E.F. A planta nossa de cada dia: plantas medicinais: descrição e uso. 2.ed. Curitiba: Gráfica Copygraf, 1990.
- [4] LORENZI, H. Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2000. 383 p.
- [5] COSTA, A.F. Farmacognosia. 3. ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2001.
- [6] PAUL, U.V.; LOSSINI, J.S.; EDWARDS, P.J.; HILBECK, A. Effectiveness of products from four locally grown plants for the management of *Acanthoscelides obtectus* (Say) and *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (both Coleoptera: Bruchidae) in stored beans under laboratory and farm conditions in Northern Tanzania. Journal of Stored Products Research, v. 45, n.2, p. 97-107, 2009.
- [7] KISSMANN, K.G.; GROTH, D. Plantas Infestantes e Nocivas. Tomo II. 2. ed. São Paulo: Editora Basf. 1991.
- [8] IGANCI, J.R.V.; BOBROWSKI, V.L.; HEIDEN, G.; STEIN, V.C.; ROCHA, B.H.G. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. Arquivos do Instituto Biológico, v.73, n.1, p. 79-82, 2006.
- [9] ZHAN, J.; ZHOU, P.A. Simplified method to evaluate the acute toxicity of ricin and ricinus agglutinin. Toxicology, v.186, n.1, p.119-123, 2003.

- [10] PANDARD, P.; DEVILLERS, J.; CHARISSOU, A.M.; POULSEN, V.; JOURDAIN, M. J.; FÉRARD, J.F.; GRAND, C.; BISPO, A. Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. *Science of the Total Environment*, v.363, n.2, p. 114-125, 2006.
- [11] FERREIRA, A.G.; ÁQUILA, M.E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 12, Edição especial, p.175-204, 2000.
- [12] LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research*, v.682, n.1, p. 71-81, 2009
- [13] MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p.176-77, 1962.
- [14] BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009. 399p.
- [15] GUERRA, M.; SOUZA, M.J. Como Observar Cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. 1. ed. São Paulo: Funpec, 2002.
- [16] PRATES, H.T.; PAES, J.M.V.; PIRES, N.M.; PEREIRA, I.A.; MAGALHÃES, P.C.; Efeito do Extrato Aquoso de *Leucena* na Germinação e no Desenvolvimento do Milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.35, n.1, p.909-914, 2001.
- [17] FERREIRA, D.F. Sisvar 4.3: sistema de análises de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Lavras: UFLA/DEX, 2000.
- [18] MILLER, D.A. Allelopaty in Forage Crop Systems. *Agronomy Journal*, v.88, n.6, p.854-859, 1996.
- [19] SOUZA, I.F.; FURTADO, D.A.S. Caracterização de aleloquímicos do centeio (*Secale cereale*) e seu potencial alelopático sobre plantas de alface (*Lactuca sativa*). *Ciência e Agrotecnologia*, v.26, n.5, p.1097-1099, 2002.
- [20] BORELLA, J.; WANDSCHEER, A.C.D.; PASTORINI, L.H. Potencial alelopático de extratos aquosos de frutos de *Solanum americanum* Mill. sobre as sementes de rabanete. *Revista de Ciências Agrárias*, v.6, n.2, p.309313, 2011.
- [21] SANTOS, V.H.M. Potencial alelopático de extratos e frações de *Neea theifera* Oerst. (Nyctaginaceae) sobre sementes e plântulas de *Lactuca sativa*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas Botânica) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho Botucatu, 2012.
- [22] CARVALHO, L.M.; CARNELOSSI, M.A.G. Efeitos alelopáticos do extrato aquoso de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) na germinação de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v.7, n.2, p.92-95, 2005.
- [23] SILVA, R.G.; NEPOMUCENO, J.C. Efeitos genotóxicos dos extratos aquosos da erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides*) em células somáticas *Drosophila melanogaster*. *Revista Perquirere*, v.4, p.1-23, 2007.

[24] MELLO, A.F.S., MACHADO, A.C.Z.; INOMOTO, M.M. Potencial de controle da erva-de-Santa-Maria sobre *Pratylenchus brachyurus*. Fitopatologia Brasileira, v.31, n.5, p.513-516, 2006.

[25] GADANO A.; GURNI, A.; LÓPEZ, P.; FERRANO, G.; CABALHO, M. In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L. Journal of Ethnopharmacology, v.81 n.1, p.11-16, 2002.

[26] NICOLETTI, M.A.; OLIVEIRA-JUNIOR, M.A.; BERTASSO, C.C.; CAPOROSSO, P.Y.; TAVARES, A.P.L. Principais interações no uso de medicamentos fitoterápicos. Infarma, v.19, n.1, p.32-50, 2007.