

Efeito de extrato aquoso e metanólico de nim (*Azadiracta indica*) sobre a germinação de alface

Effect of aqueous and methanolic extracts nim
(*Azadiracta indica*) on the germination of lettuce

Meridiana Canabarro Ritter¹

Oscar Mitsuo Yamashita²

Marco Antonio Camillo de Carvalho²

¹ Estudante de Agronomia. Universidade do Estado de Mato Grosso.
Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias. Alta Floresta, MT.
E-mail: canabarro86@hotmail.com

² Eng. Agrônomo. Prof. do Curso de Agronomia. Universidade do Estado de
Mato Grosso. Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias. Alta Floresta, MT.
E-mails: yama@unemat.br; marcocarvalho@unemat.br

RESUMO **ABSTRACT**

São diversas as espécies de plantas com capacidade de síntese de substâncias aleloquímicas, provocando prejuízos na germinação e no desenvolvimento inicial de outras plantas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito alelopático de extrato aquoso e metanólico de nim na germinação de alface. Testaram-se concentrações de extrato aquoso de nim em diferentes cultivares de alface. Também testaram-se dois extratores (água e metanol), utilizando quatro concentrações. O nim exerceu efeito alelopático diferencial nas diferentes cultivares, havendo redução na germinação à medida que a concentração era aumentada. Os resultados demonstraram que o metanol foi mais efetivo na redução da germinação das sementes, sendo que quanto maior a concentração, menor era ao percentual germinativo. Vale ressaltar que o uso de metanol como extrator pode ter interferido negativamente na germinação das sementes de alface.

There are several species of plants capable of synthesizing allelochemicals substances, causing losses in germination and early development of other plants. The objective of this study was to evaluate the allelopathic effect of aqueous and methanolic extracts of neem on lettuce seed germination. Were tested concentrations of aqueous extract of neem in different lettuce cultivars. Also were tested two extracts (water and methanol) using four concentrations. The neem exerted differential allelopathic effect on different cultivars, with the reduction in germination as the concentration was increased. The results showed that methanol was more effective in reducing the germination of seeds, and the higher the concentration, the lower the percentage germination. It is noteworthy that the use of methanol as extractant may have interfered negatively in germination of lettuce seeds.

PALAVRAS-CHAVE **KEY WORDS**

Lactuca sativa
alelopatia
Índice de Velocidade de Germinação

Lactuca sativa
allelopathy
Germination Speed Index

INTRODUÇÃO

As plantas competem entre si por fatores bióticos e abióticos de sobrevivência, tais como água, luz, espaço físico e nutrientes (FERREIRA; ÁQUILA, 2000). Como são organismos autotróficos e imóveis, estas desenvolveram ao longo das gerações, estratégias de defesa, como a produção de determinadas substâncias, sejam elas para se defenderem de insetos que prejudicam o seu crescimento e formação, ou provocando inibição no desenvolvimento entre os indivíduos de mesma espécie ou de espécies diferentes. Essa estratégia e seus efeitos são denominados de alelopátia (DURIGAN; ALMEIDA, 1993; GATTI et al., 2004; TAIZ; ZEIGER, 2004).

A alelopátia normalmente é definida como um processo pelo qual são liberados produtos de metabolismo secundário de uma determinada planta, impedindo ou estimulando a germinação e desenvolvimento de outras plantas próximas, através da liberação dessas substâncias pelas partes aéreas, subterrâneas ou até pela decomposição do material vegetal (RIZVI; RIZVI, 1992; GOETZE; THOMÉ, 2004).

As substâncias químicas produzidas pelas plantas com possíveis atividades alelopáticas têm potencial para serem utilizadas na formulação de bio-herbicidas ou até modificadas, a fim de aumentar alguma outra atividade biológica (SOUZA FILHO et al., 2006; ANDRADE et al., 2009).

A espécie *Azadiracta indica*, popularmente conhecida como nim ou nim indiano, é uma árvore nativa da Índia, adaptada à condição de clima tropical; vem sendo cultivada em diversos países da Ásia, África, Oceania, América do Sul e Central (SEIXAS, 2009). O nim tem um elevado conteúdo de azadiractina, princípio ativo que tem demonstrado grande eficácia no combate a diversas pragas e doenças que atacam plantas e animais (SOARES et al., 2010).

Produtos à base de nim tem sido aplicados na agricultura, pois possuem poder inseticida, favorecendo o desenvolvimento de práticas sustentáveis de manejo de pragas. A aplicação pode ser realizada por meio de polvilhamento do pó de sementes e folhas, para o controle de lagartas e mediante a pulverização de extratos aquosos ou de soluções de óleo emulsionável para o controle de insetos ou pragas foliares (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005).

Os efeitos alelopáticos são mediados por substâncias pertencentes a diferentes categorias de compostos produzidos pelas plantas. A resistência ou tolerância aos metabolismos secundários são uma característica específica de certas espécies, existindo aquelas mais sensíveis como, por exemplo, a alface (*Lactuca sativa*). Essa espécie normalmente é indicada como planta teste, por características como germinação rápida, uniforme e sensibilidade que permite expressar os resultados sob baixas concentrações das substâncias aleloquímicas (ALVES et al., 2004).

Para a determinação do potencial alelopático de uma planta, tem-se recorrido à técnica de extratos aquosos. Essa técnica é considerada a mais simples, pois um dos solventes mais usados é a água destilada, seguindo assim de outros solventes orgânicos, tais como etanol e metanol. Esses testes alelopáticos são feitos com o objetivo de simular o que acontece na natureza. A incorporação de substâncias com atividade alelopática na agricultura pode ser uma alternativa para reduzir o uso de herbicidas sintéticos sem dano ao meio ambiente.

Com estudos cada vez mais avançados, sabe-se que o nim tem atividades alelopáticas específicas, como repelentes e herbicidas. O extrato aquoso do nim pode provocar uma considerável diminuição na germinação de diversas espécies. O conhecimento dessa redução pode levar ao conhecimento do real efeito alelopático dessa planta na germinação de espécies sensíveis, como a alface.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do extrato aquoso e metanólico de nim (*Azadiracta indica*) sobre a germinação de diferentes cultivares de alface.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram conduzidos no Laboratório de Tecnologia de Sementes, no Centro de Tecnologia da Amazônia Meridional (CETAM), da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições.

No primeiro experimento, foi estudada a resposta diferencial de quatro cultivares de alface (Veneranda, Babá de Verão, Americana e Repolhuda) em função de quatro concentrações crescentes de nim, sob diluente inorgânico (água destilada), organizado em esquema fatorial

4 x 4, com quatro repetições. Os extratos foram preparados com folhas verdes de plantas de nim adultas (7 anos), colhidas na região de Alta Floresta, MT. Após a colheita, as folhas foram lavadas com água corrente, picadas e, posteriormente, secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C, até peso constante. Foram tomadas quantidades definidas desse material (200 g para 1000 mL de água destilada), permanecendo em repouso por 24 horas em béquer, que foi lacrado com filme plástico transparente e envolvido com alumínio flexível visando evitar uma possível fotodegradação. Essa solução estoque, de concentração 20% (p/v), foi posteriormente filtrada e diluída nas concentrações usadas no experimento. O experimento contou com unidades experimentais representadas por caixas em acrílico transparentes tipo gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), que foram forradas previamente com 2 folhas de papel germibox, previamente autoclavadas a 120 °C por uma hora e umedecidas com volume de solução na quantidade de 2,5 vezes o peso dos papéis (BRASIL, 2009). Foram semeadas 50 sementes de cada cultivar em cada unidade experimental, previamente umedecido com as concentrações de 0, 5, 10 e 20% p/v de extrato de folhas de nim. O tratamento 0% foi constituído apenas de água destilada, tido como testemunha. Foram contadas as sementes germinadas por 7 dias. Foi calculado o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), segundo a metodologia de Maguire (1962), e o percentual de germinação foi determinado utilizando-se como critério o surgimento da radícula de comprimento superior a 0,2 cm. Além disso, foi mensurado o comprimento de raiz ao final do experimento. Os dados foram submetidos à análise de variância, a comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade e análise de regressão, utilizando-se o software estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

Para o segundo experimento, os tratamentos foram constituídos por dois extratores (água destilada e metanol) e 4 concentrações (0; 3; 6 e 12% peso/volume) de folhas de nim, sendo organizado em esquema fatorial 2 x 4, com quatro repetições. Foram tomadas quantidades definidas de extrato de nim em pó (120 g para 1000 mL de cada solvente – água destilada ou metanol), permanecendo em repouso por 24 horas em béquer, que foi lacrado com filme plástico transparente e envolvido com alumínio flexível visando evitar uma possível fotodegradação. Essa solução estoque, de concentração 12% (p/v), foi posteriormente utilizada e também diluída com os solventes (água e metanol), para o

preparo das demais concentrações a serem estudadas. Para o extrator inorgânico (água destilada), a solução (e respectivas concentrações) foi aplicada diretamente sobre os papéis. Para o extrator orgânico (metanol) depois de aplicados, as caixas permaneceram abertas em temperatura ambiente, por 30 minutos, para completa evaporação do metanol. Posteriormente, os papéis foram umedecidos com água destilada (12 ml), para a semeadura das espécies. Em cada unidade experimental, sobre os papéis, foram semeadas 50 sementes da cultivar Babá de Verão, as quais permaneceram em câmara de germinação tipo BOD, com temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz. As sementes germinadas foram contadas diariamente, iniciando no primeiro dia após a semeadura e finalizando ao 7º dia. Foi calculado o IVG e o percentual de germinação. Ao 7º dia após a semeadura, as plantas foram retiradas das unidades experimentais e levadas à estufa de circulação forçada de ar (65 °C). Os dados também foram submetidos à análise de variância, a comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey, de maneira similar ao primeiro experimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiro experimento

Ao se avaliar diferentes cultivares de alface em função da variação na concentração de extrato de nim diluído em água, observou-se significância para a interação entre os fatores cultivar e concentração ($p < 0,05$) para todas as variáveis estudadas, ou seja, % de germinação, IVG e comprimento radicular.

Avaliando-se diferentes cultivares de alface, observou-se que houve variação no percentual germinativo destas, sendo que o aumento na concentração do extrato de nim reduziu a germinação das sementes, exceto para a cultivar Babá de Verão (Figura 1).

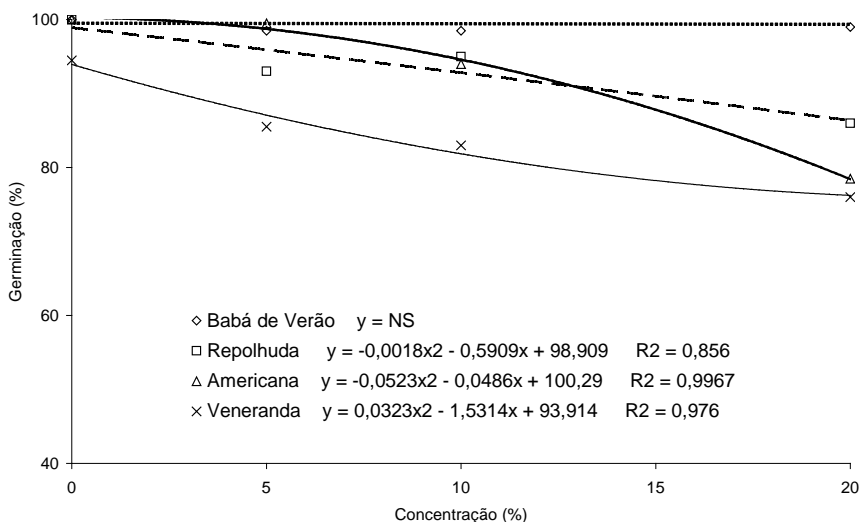


Figura 1 – Germinação (%) de sementes de alfaca em substrato umedecido em função do aumento na concentração de extrato aquoso de nim.

A maior concentração de extrato aquoso de nim (20%) promoveu uma redução de entre 14 e 24% da germinação das sementes de alfaca. França et al. (2008) verificaram redução de 20% na germinação da cultivar Regina de Verão, quando as sementes foram mantidas em substrato umedecido com 10% de extrato aquoso de nim, confirmando os resultados observados no presente trabalho. Entretanto Sindhu et al. (2005) verificaram estímulo na germinação de sementes de alfaca, submetidas a tratamento com 10% de concentração de folhas verdes de nim. Não foi observada redução na germinação de sementes de Babá de Verão, indicando possível resposta diferencial dessa cultivar ao aumento na concentração de extrato de nim. Dessa maneira, foi a espécie escolhida para o desenvolvimento da segunda etapa da pesquisa.

Quanto ao IVG, observou-se que, para todas as cultivares estudadas, à medida que a concentração era aumentada, o IVG era reduzido (Figura 2), já a partir da menor concentração (5%), exceto Americana, cujo índice só apresentou redução significativa a partir de 10%.

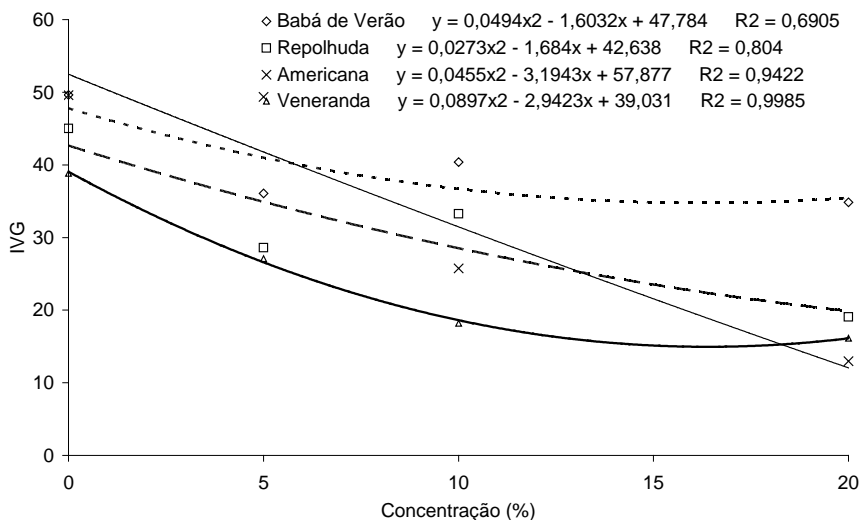


Figura 2 – IVG de sementes de alface em substrato umedecido em função do aumento na concentração de extrato aquoso de nim.

Dentro de cada concentração, observou-se que houve variação no IVG, demonstrando que a qualidade fisiológica das sementes pode ter influenciado nos resultados. Na testemunha (ausência de extrato de nim), o IVG variou de 38,8 a 49,6, sendo que o menor valor foi verificado na cultivar que obteve menor percentual germinativo, demonstrando o baixo vigor das sementes da cultivar Veneranda em relação às demais. Na concentração de 5%, observou-se que o menor valor de IVG foi obtido pela mesma cultivar, sendo que esse resultado se confirmou nas demais concentrações (10 e 20% do extrato aquoso de nim). Vale ressaltar que a redução na velocidade do processo germinativo, indicativo de vigor das sementes, foi nítida em todas as cultivares, indicando efeito prejudicial do extrato de nim. Santos Neta et al. (2010) também relatam a redução significativa na germinação de sementes de alface em função do umedecimento do substrato com extratos de nim, confirmando os resultados obtidos.

Apesar de algumas literaturas relatarem o benefício de substâncias aleloquímicas na germinação de sementes (GUENZI; McCALLA, 1966; SILVA et al., 2011; TOLARDO, 2011), não foi observada essa tendência quando do uso de extrato aquoso de nim.

Na determinação do comprimento de raiz das plântulas, observou-se a mesma tendência observada no IVG, ou seja, as plântulas geradas a partir de sementes com baixo vigor não cresceram, desenvolvendo um sistema radicular com comprimento inferior ao das plântulas cujo vigor era maior (Figura 3). Assim, os resultados indicam efeito prejudicial de extrato de nim no crescimento radicular de alface, divergindo dos obtidos por Guenzi e McCalla (1966) e de Silva et al. (2011), que observaram melhoria na germinação e desenvolvimento inicial de alface e feijão-caupi, respectivamente com o uso de extratos de nim.

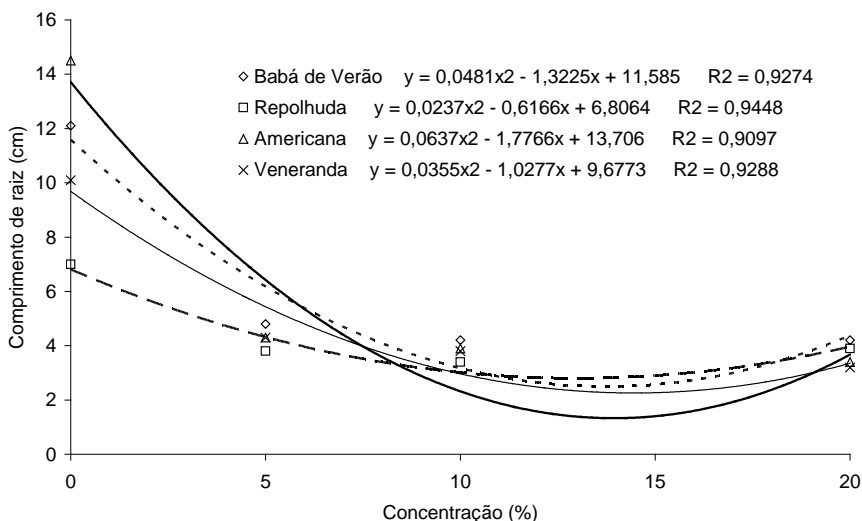


Figura 3 – Comprimento de raiz (cm) de plântulas de alface em substrato umedecido em função do aumento na concentração de extrato aquoso de nim.

Segundo experimento

Houve diferença significativa na interação entre concentração e diluente para a variável germinação ($p < 0,05$). A germinação das sementes de Babá de Verão atingiram 100% quando o substrato não recebeu o extrato de nim, independente do extrator. Entretanto, quando o substrato foi diluído em água, até a concentração de 6% de extrato de nim, não houve diferença em relação à testemunha. Já com metanol,

na concentração de 3%, o percentual germinativo foi próximo de 50% (Tabela 1).

Não houve germinação das sementes de alface quando o substrato foi diluído em metanol nas concentrações de 6 e 12%. Mas quanto diluído em água, a germinação das sementes de alface atingiram 66% na maior concentração.

Os resultados demonstram que o extrato de nim provocou redução significativa na germinação das sementes de alface cultivar Babá de Verão, sendo que o uso de metanol para extração dos aleloquímicos provocou maior efeito alelopático que a água. Esses resultados são similares aos observados por Santos Neta et al. (2010).

Tabela 1 – Germinação (%) de sementes de alface (cultivar Babá de Verão) em substrato umedecido com diferentes diluentes e concentrações de nim.

Concentração (%)	Diluyente	
	Água	Metanol
0	100,00 Aa	100,00 Aa
3	100,00 Aa	53,00 Bb
6	98,50 Aa	0,00 Bc
12	66,00 Ab	0,00 Bc
C.V.(%)	20,65	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na mesma linha não diferem entre si no teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Essa redução ocorreu também no índice de velocidade de germinação (Tabela 2). Resultados semelhantes foram obtidos por França et al. (2008), que verificaram que o extrato aquoso e o metanólico de nim reduziram significativamente o IVG de plântulas de alface cultivar Regina de Verão.

Possivelmente o uso de metanol possa ter prejudicado a germinação e a velocidade desse processo pela presença de compostos prejudiciais às sementes de alface. Segundo Inderjit e Dankshini (1996), o uso de solventes inorgânicos como clorofórmio, éter, hexano e metanol devem ser evitados por não ocorrer em condições naturais, podendo liberar compostos que não atuam alelopaticamente, mas sim prejudicando a germinação das sementes estudadas.

Tabela 2 – Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de alface (cultivar Babá de Verão) em substrato umedecido com diferentes diluentes e concentrações de nim.

Concentração	Diluyente	
	Água	Metanol
0	43,0 Aa	43,0 Aa
3	26,5 Ab	5,0 Bb
6	18,3 Ac	0,0 Bb
12	5,3 Ad	0,0 Bb
C.V.(%)	16,15	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na mesma linha não diferem entre si no teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

De acordo com os resultados obtidos, fica constatado o efeito alelopático do nim sobre a cultura do alface, tanto pelo extrator água quanto pelo extrator metanol. Esse efeito é comprovado pela diferença existente entre as concentrações aplicadas, a partir da qual passa a ocorrer redução na germinação das plântulas, especialmente quando se usou o metanol. Vale ressaltar que o efeito diferencial das cultivares se deve ao vigor destas na ocasião da implantação do experimento. Mesmo assim, tem-se a visualização de que o efeito diferencial entre cultivares pode existir.

CONCLUSÃO

Extrato aquoso e metanólico de nim interfere na germinação de sementes de alface, havendo maior redução à medida que a concentração é aumentada.

O extrato metanólico de nim é mais prejudicial à germinação de sementes de alface, em comparação com o extrato aquoso.

Cultivares de alface se comportam de maneira diferencial a concentrações crescentes de nim no substrato.

REFERÊNCIAS

ALVES, M. C. S.; MEDEIROS FILHO, S.; INNECCO, R.; TORRES, S. B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1083-1086, 2004.

ANDRADE, H. M.; BITTENCOURT, A. H. C.; VESTENA, S. Potencial alelopático de *Cyperus rotundus* L. sobre espécies cultivadas. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 33, n. spe., p. 1984-1990, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009. 399p.

DURIGAN, J. C.; ALMEIDA, F. L. S. *Noções sobre alelopatia*. Jaboticabal: Funep, 1993. 28p.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia*, v. 12, n. spe., p. 175-204, 2000.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FRANÇA, A. C.; SOUZA, I. F.; SANTOS, C. C.; OLIVEIRA, E. Q. MARTINOTTO, C. Atividades alelopáticas de nim sobre o crescimento de sorgo, alface e picão-preto. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1374-1379, 2008.

GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. A.; LIMA, M. I. S. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. *Acta Botanica Brasilica*, v.18, n.3, p.459-472, 2004.

GOETZE, M.; THOMÉ, G.C.H. Efeito alelopático de extratos de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação de três espécies de hortaliças. *Revista Brasileira de Agrociência*, Porto Alegre, v. 10, n. 1, p. 43-50, 2004.

GUENZI, W. D.; MCCALLA, T. M. Phytotoxic substances extract from soil. *Soil Science Society of America Proceedings*, Madison, v. 30, n. 3, p. 214-216, 1966.

INDERJIT, K.; DAKSHINI, K. M. M. On laboratory bioassays in allelopathy. *The Botanical Review*, New York, v. 61, n. 1, p. 28-44, 1996.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Science*, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MOSSINI, S. S. G.; KEMMELMEIER, C. A árvore nim (*Azadirachta indica* A.Juss.) múltiplos usos. *Acta Farmacologica Bonaerense*, Maringá, v. 24, n. 1, p. 148-149, 2005.

RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, H. (Eds.) *Allelopathy: Basic and applied aspects*. London, Chapman & Hall, 1992. p. 443-472.

SANTOS NETA, J. M.; GONÇALVES, L. D.; VALLONE, H. S.; BARBOSA, M. C. S. Efeitos alelopáticos do *Azadirachta indica* (nim) na germinação de alface (*Lactuca sativa* L.). In: SEMANA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA IFMG, 3., 2010, Bambuí. Resumos... Bambuí: IFMG, 2010. 1CD.

SEIXAS, G. B. *Determinação da transpiração em plantas de nim indiano (Azadirachta indica a. Juss) utilizando métodos de estimativa de fluxo de seiva*. 2009. 71 f. Dissertação (Mestrado em Física Ambiental) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Física, Cuiabá, 2009.

SILVA, G. C.; GOMES, D. P.; SANTOS, C. C. Sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. (Walp.)), tratadas com extratos de folhas de nim (*Azadirachta indica* A.Juss.) avaliação da germinação e da incidência de fungos. *Scientia Agraria*, Curitiba, v. 12, n. 1, p. 19-23, 2011.

SINDHU, A.; KUMAR, S.; SINDHU, G.; ALI, H.; ABDULLA, M. K. Effect of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) leachates on germination and seedling growth of weeds. *Journal of Allelopathy*, New Delhi, v. 16, n. 2, p. 329-334, 2005.

SOARES, F. B.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. V.; OLIVEIRA, R. M.; PAIVA, P. D. O.; SILVA, D. R. G. Cultivos e usos do nim. *Boletim Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 68, p. 1-14, 2010.

SOUZA FILHO, A. P. S.; BORGES, F. C.; SANTOS, L. S. Análise comparativa dos efeitos alelopáticos das substâncias químicas titonina e titonina acetilada. *Planta Daninha*, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 205-210, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 722p.

TOLARDO, T. M. R. *Germinação de sementes de alface em concentrações de extrato aquoso de trapoeraba (Commelina benghalensis L.)*. 2011. 29 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Alta Floresta, Alta Floresta, MT, 2011.

