

EFEITO INIBITÓRIO DO ÓLEO DE *Azadirachta indica* A. Juss. SOBRE PLANTAS DANINHAS¹

Antônio Pedro da Silva SOUZA FILHO²

Roberto Lisboa CUNHA³

Marcus Arthur Marçal de VASCONCELOS⁴

RESUMO: Este trabalho tem por objetivo caracterizar a atividade inibitória do óleo de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) e analisar, comparativamente, seus efeitos. O óleo obtido foi preparado em concentrações de 0,5, 1,0, 1,5 e 3,0%, tendo como eluente o éter metílico, e testados sobre a germinação de sementes, desenvolvimento da radícula e do hipocótilo das plantas daninhas de área de pastagens cultivadas, malícia (*Mimosa pudica*) e mata-pasto (*Senna obtusifolia*). O óleo da espécie estudada evidenciou atividade inibitória em intensidades que variaram em função da concentração do óleo, da planta receptora e do fator da planta analisado. O efeito promovido sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento do hipocótilo indicou tendência linear, enquanto para o desenvolvimento da radícula observou-se tendência quadrática. A germinação das sementes e desenvolvimento da radícula foram os fatores mais intensamente inibidos pelo óleo. As intensidades das inibições estiveram positivamente associadas à concentração, com inibições máximas verificadas a 3,0%. Comparativamente, mata pasto foi a espécie receptora mais sensível aos efeitos do óleo de Nim, notadamente em relação à germinação de sementes e desenvolvimento de hipocótilo quando, nessa ordem, diferenças de até 52 e 80% foram registradas.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Alelopatia, Amargosa, Nim, Germinação.

¹ Aprovado em 24.11.09 para publicação.

² Engenheiro Agrônomo, Dr., Pesquisador do Laboratório de Agroindústria, Embrapa Amazônia Oriental, 66095-100, Belém (PA). E-mail: apedro@cpatu.embrapa.br.

³ Bacharel em Biologia, Dr., Pesquisador do Laboratório de Agroindústria, Embrapa Amazônia Oriental, 66095-100, Belém (PA). E-mail: rlisboa@cpatu.embrapa.br.

⁴ Engenheiro Agrônomo, M. Sc., Laboratório de Agroindústria, Embrapa Amazônia Oriental, 66095-100, Belém (PA). E-mail: mavasc@cpatu.embrapa.br.

INHIBITORY EFFECT OF *Azadirachta indica* A. Juss. OIL ON WEEDS

ABSTRACT: This study aimed to characterize the inhibitory activity of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss.) and to comparatively analyse its effect. The oil obtained was prepared at concentrations of 0.5, 1.0, 1.5 and 3.0%, where the eluent was methylic ether, and tested upon seed germination and development of the radicle and hypocotyl in weeds of cultivated grassland areas, malícia (*Mimosa pudica*) and mata-pasto (*Senna obtusifolia*). Depending on the concentrations, the oil showed different intensity of inhibitory activity on the receptor plant and on the examined plant factor. The effect promoted on seed germination and development of the hypocotyl indicated a linear trend, and a quadratic trend was observed for the radicle development. Seed germination and hypocotyl development were the factors most intensely inhibited by the oil. Inhibition intensities were positively associated to concentration, with maximum inhibition verified at 3.0%. Comparatively, the mata-pasto was the species most sensitive to the neem oil's effect, especially in relation to seed germination and hypocotyl development where, in this order, differences of up to 52 and 80% were recorded.

INDEX TERMS: Allelopathy, Amargosa, Neem, Germination.

1 INTRODUÇÃO

Historicamente, as plantas desempenham importância singular nas mais diferentes atividades humanas, desde a medicinal, passando por cosmética, alimentar e outras (SOUZA FILHO, 2002).

Em função dessas especificidades e considerando as possibilidades de usos das substâncias químicas produzidas pelas plantas, como alternativa viável com ações inseticida (CAVALCANTE, 2006; LIANG; CHEN; LIU, 2003; SILVA et al., 2005), fungicida (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004; RIZIVI et al., 1999), nematocida (PONTE; PONTE, 2006; ROCHA; CAMPOS; SOUZA, 2004; SALGADO; CAMPOS, 2003) e herbicida (XIANG et al., 2005; BORGES, 2003), notadamente em função da necessidade atual de superar problemas como resistência e riscos de contaminação ambiental pelos produtos sintéticos não-biodegradáveis (MOSSINE; KEMMELMEIER, 2005).

Azadirachta indica A. Juss., conhecida vulgarmente como Nim ou Amargosa, vem merecendo atenção especial devido à sua

relevância quanto às suas propriedades na medicina popular e como inseticida natural (MOSSINE; KEMMELMEIER, 2005). Nesse sentido, o grande atrativo do Nim é o seu elevado conteúdo de azadiractina, um princípio ativo que tem demonstrado grande eficácia no combate a diversas pragas e doenças que atacam plantas e animais (SCHMUTTERER, 1990). Além disso, outros compostos, como os triterpenoides, geduninas, nimbinm, liminoides, solanina, solanol, solanoacetato-3-dia-acetilsolanina, azadiradion, 14-epoxia zaridion, gedunim, Nimbineur e diacetil Nimbinim foram isolados (NEVES; OLIVEIRA; NOGUEIRA, 2003).

Adicionalmente a todas essas possibilidades de uso, os extratos vegetais de algumas espécies revelam-se como potentes inibidores da germinação de sementes e do desenvolvimento de diferentes espécies de plantas, ação de bioerbicida (DUKE; ROMAGNI; DAYAN, 2000; DUKE et al., 2002; KWAK; KIL; SOH, 1999; ROMAGNI; DUKE; DAYAN, 2000).

As plantas invasoras de pastagens são prejudiciais ao gado e ao pasto, tornando o seu controle um dos fatores que mais limita uma pecuária, devido ao uso indiscriminado de herbicidas sintéticos que agridem o meio ambiente. Por conseguinte, este trabalho tem por objetivo caracterizar a atividade inibitória do óleo de Nim e analisá-los sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plantas daninhas de área de pastagens cultivadas, tendo em vista um potencial herbicida no controle de ervas invasoras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETATIVO E OBTENÇÃO DO ÓLEO

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Agroindústria da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará. O material vegetativo utilizado, sementes de *Azadirachta indica* A. Juss., foi obtido junto a produtores da região. O óleo de nim foi extraído de amostras de 600 g de sementes, previamente secas em estufa de circulação de ar forçada, por 72 h. Após a secagem, as sementes foram trituradas com auxílio de um moinho de facas. O material obtido foi submetido ao processo de extração de óleo, utilizando-se éter como solvente em extrator Soxhlet arraste a vapor. O período de extração foi de 6 h e o solvente foi eliminado sob vácuo em evaporador rotativo. O óleo, assim obtido, foi imediatamente armazenado em geladeira, em frasco de cor âmbar, até o momento da utilização.

Como plantas indicadoras dos efeitos inibitórios, utilizaram-se as espécies de plantas daninhas, *Mimosa pudica* (malícia) e *Senna obtusifolia* (matapasto). Suas sementes foram coletadas em áreas de pastagens cultivadas, no município de Terra Alta, estado do Pará, passaram por processo de limpeza e foram tratadas com vista à quebra de dormência,

via imersão em ácido sulfúrico, por 20 min, conforme especificado por Souza Filho, Dutra e Silva (1998).

2.2 BIOENSAIO DE GERMINAÇÃO

O trabalho foi desenvolvido em câmara de germinação, com temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 12 h. Cada placa de Petri de 9,0 cm de diâmetro, forrada com uma folha de papel de filtro qualitativo, recebeu 30 sementes, constituindo-se em uma parcela experimental. Foi considerada semente germinada aquela que apresentava extensão radicular igual ou superior a 2,0 mm. A germinação das sementes foi monitorada em períodos de 10 dias, com contagens diárias e eliminação das sementes germinadas.

2.3 BIOENSAIOS DE DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS

O trabalho foi desenvolvido em câmara de germinação, com temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 12 h. Cada placa de Petri de 9,0 cm de diâmetro recebeu três sementes, pré-germinadas, há três dias de germinadas. Ao final do período de 10 dias de crescimento, mediu-se o comprimento da radícula e do hipocótilo.

2.4 OUTROS PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Cada placa de Petri forrada com papel filtro esterilizado recebeu 3,0 ml da solução teste. Após a evaporação do solvente, éter etílico, foi adicionado um volume equivalente de água destilada, mantendo-se, dessa forma, a concentração original. As soluções testes foram adicionadas apenas uma vez, quando do início dos bioensaios, sendo, a partir de então,

adicionado apenas água destilada, sempre que se fazia necessário. O óleo foi testado nas concentrações de 0,5, 1,0, 1,5 e 3,0% (v/v). O tratamento testemunha consistiu somente em uso de água destilada.

2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado, com quatro repetições, tendo como testemunha a água destilada, em modelo hierárquico, com dois fatores. Os dados foram transformados em arco-seno \sqrt{x} , para seguirem distribuição normal. Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância, teste F, e, quando os efeitos de tratamentos apresentaram diferença significativa ($P < 0,01$), as médias foram comparadas por meio do teste de regressão. Para as análises utilizou-se o programa computacional *Statistical Analysis System*, (SAS INSTITUTE, 1989).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em estudos de avaliação da atividade fitotóxica de extratos brutos, cuidados especiais devem ser dirigidos para o fator potencial osmótico, pois, associado com alelopatia, apresentam efeitos aditivos, levando a superestimar os efeitos alelopáticos

ou mesmo atribuir atividade alelopática para dada espécie que não apresente (SOUZA FILHO, 2006). Neste trabalho, para todas as concentrações testadas, inclusive a máxima de 3%, os efeitos osmóticos foram desprezados, tendo em vista as indicações de Souza Filho e Alves (2000).

Os efeitos das concentrações de extratos de nim apresentaram uma tendência linear sobre a germinação das duas espécies receptoras, malícia e mata-pasto (Figura 1A e B). A germinação das sementes de mata-pasto apresentaram ser inibidas em maior magnitude do que a de malícia, especialmente para concentrações acima de 1%. Para mata-pasto, concentração de 1,5% efetivou inibição superior àquela verificada para malícia a 3%, o que confirma maior sensibilidade das sementes de mata-pasto aos efeitos inibitórios do óleo de Nim. Esses resultados podem ser considerados de baixa magnitude quando se consideram outros resultados, por exemplo, Souza Filho (2006) obteve efeitos do óleo de capim-salsar (*Cymbopogon winteranius*) e capim-santo (*C. citratus*), em concentrações de 300 mg L⁻¹, para as mesmas espécies de plantas receptoras (malícia e mata-pasto). Aparentemente, o óleo de Nim apresenta baixa especificidade em relação às duas espécies receptoras.

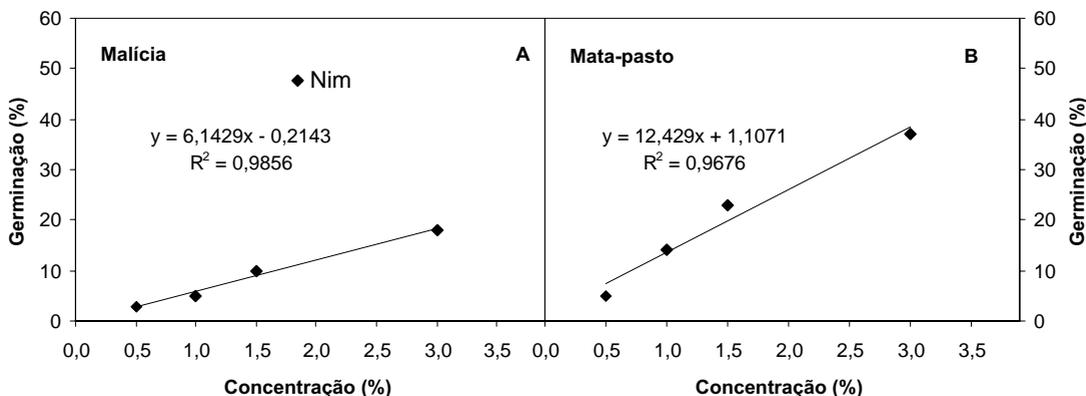


Figura 1 - Efeitos inibitórios do óleo de nim sobre a germinação de sementes de Malícia (A) e Mata-pasto. (B). Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha, água destilada.

O desenvolvimento da radícula das duas espécies seguiu a curva quadrática à variação da concentração do extrato na faixa de 0,5% a 3% (Figura 2A e B). O modelo de variação apresentado pelas duas espécies indica semelhança de intensidade de variação no desenvolvimento da radícula. Aparentemente, malícia e mata-pasto apresentam a mesma sensibilidade aos efeitos inibitórios do óleo de Nim, em relação ao desenvolvimento da radícula. Comparativamente, os efeitos promovidos sobre o desenvolvimento da radícula (~40%; Figura 2) foram o fator mais

intensamente afetado pelo extrato de nim do que a germinação de sementes (~20%; Figura 1A) para a espécie malícia; enquanto para o mata-pasto, as intensidades de inibições foram equivalentes. Entretanto, a magnitude máxima dos efeitos verificados para as duas espécies receptoras pode ser considerada baixa quando se compara com outras informações disponíveis na literatura. Por exemplo, Vilhena (2006) obtiveram inibições da ordem de 55% sobre o desenvolvimento da radícula de malícia e de 32% sobre mata-pasto, para concentração bem inferior, da ordem de 100 mg L⁻¹.

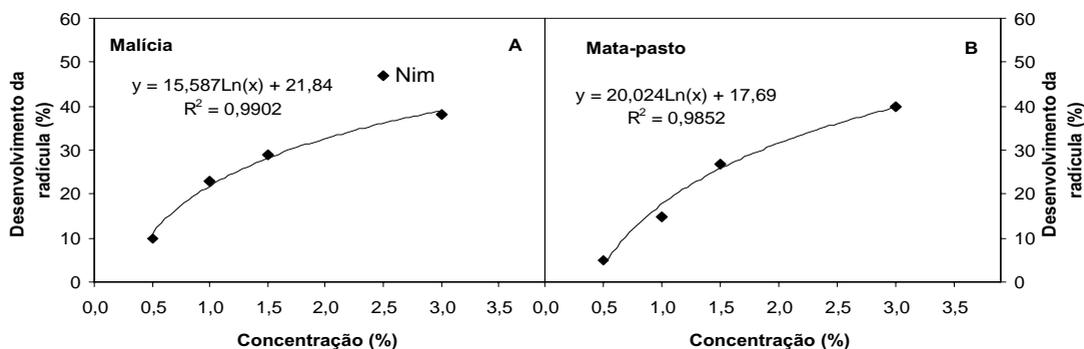


Figura 2 - Efeitos inibitórios do óleo de nim sobre o desenvolvimento da radícula de sementes de Malícia (A) e Mata-pasto (B). Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha, água destilada.

Efeito linear foi observado para o desenvolvimento do hipocótilo, como resposta à variação da concentração do óleo de Nim (Figura 3A e B). As intensidades inibitórias foram baixas, mesmo na concentração mais elevada (3%), especialmente aquelas efetivadas sobre

o desenvolvimento do hipocótilo de malícia, o que repete o resultado obtido no bioensaio de germinação (Figura 1). Quando se consideram os demais resultados, o desenvolvimento do hipocótilo foi o de menor sensibilidade aos efeitos inibitórios do óleo de Nim.

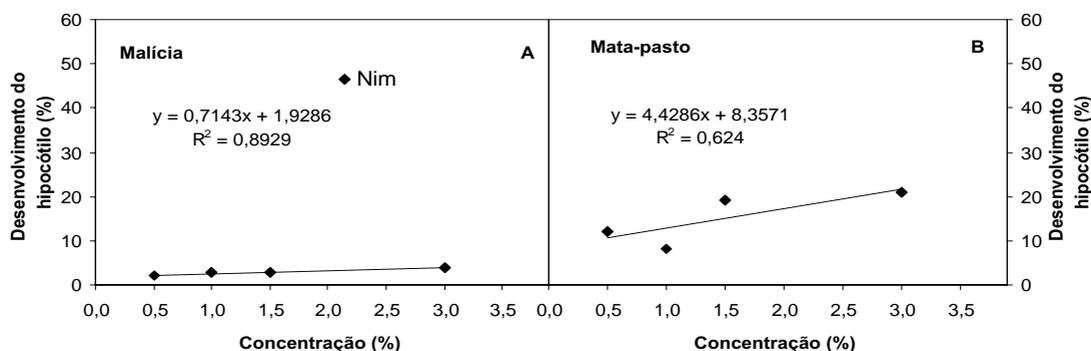


Figura 3 - Efeitos inibitórios do óleo de nim sobre o desenvolvimento do hipocótilo de sementes de Malícia (A) e Mata-pasto (B). Dados expressos em percentual de inibição em relação ao tratamento testemunha, água destilada.

A atividade biológica de um dado aleloquímico depende tanto da concentração como do limite de resposta da espécie afetada. O limite de inibição para uma dada substância não é constante, porém está intimamente relacionada à sensibilidade da espécie receptora, aos processos da planta e às condições ambientais. Os efeitos inibitórios estiveram positivamente associados à concentração do óleo e às espécies receptoras, tanto quando se analisaram os efeitos sobre a germinação das sementes (Figura 1) quanto o desenvolvimento da radícula (Figura 2) e do hipocótilo (Figura 3) das duas espécies de plantas receptoras. Inibições crescentes foram sempre obtidas com o aumento da concentração ($P < 0,001$). Invariavelmente, as inibições máximas foram sempre observadas na concentração mais elevada (3%). No mesmo sentido, a espécie *Senna obtusifolia* tendeu a apresentar maior sensibilidade aos efeitos inibitórios do que *Mimosa pudica*, sendo essa observação mais marcante quando se analisaram os efeitos sobre a germinação das sementes e do desenvolvimento do hipocótilo e menos marcante para os efeitos sobre o desenvolvimento da radícula.

É assumido que um dado aleloquímico possui dois atributos: o inibitório e estimulatório (AN; JOHNSON; LOVETTE, 1993). Quando em baixa concentração, os efeitos alelopáticos podem não ser inibitórios para dada espécie receptora ou apresentar efeitos estimulatórios em determinados casos (RICE, 1984). Os resultados obtidos neste trabalho mostram que, mesmo em concentração tão baixa quanto 0,5%, os efeitos foram sempre inibitórios para as duas espécies receptoras, indicando que, provavelmente, apenas em concentração mais baixa do que 0,5%, efeitos estimulatórios podem ser esperados. Naturalmente, a diferença na sensibilidade evidenciada pelas duas espécies aos efeitos do extrato pode

contribuir para maior ou menor extensão desses efeitos. Mata-pasto, por revelar maior sensibilidade, tenderia a evidenciar efeitos inibitórios em concentrações mais baixas do que malícia, sendo tal diferença mais marcante para a germinação de sementes.

Os efeitos do extrato de Nim sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento de plantas são frequentemente explicados em termos individuais de alguns dos principais constituintes. Entretanto, o extrato é uma mistura de diferentes componentes, em proporções variadas e é, frequentemente, desconhecido se e como esses constituintes interagem entre si e promovem seus efeitos sobre outros organismos. Adicionalmente, há considerável variação na composição do extrato de certas espécies de plantas; tal variação pode ser em função da sazonalidade, da diferença entre indivíduos de populações e indivíduos de mesma população (TARAYRE et al., 1995). Os resultados obtidos no presente trabalho indicaram que independentemente da concentração e do parâmetro da planta estudado, mata-pasto evidenciou maior atividade inibitória da germinação das sementes (Figura 1B) e do desenvolvimento do hipocótilo (Figura 3B). Essa superioridade pode ser atribuída tanto às diferenças na composição dos constituintes do extrato vegetal como também à concentração com que cada constituinte é encontrado em cada óleo. Por exemplo, Vilhena (2006) comparou duas espécies de *Cyperus* e atribuiu as divergências na intensidade alelopática às verificadas na composição química dos óleos. Além disso, foram verificados que os óleos essenciais que apresentavam maiores índices de inibição alelopática eram constituídos principalmente por sesquiterpenos que continham o grupo cetona ou hidroxila; os óleos constituídos de grupo acetato ou somente hidrocarboneto apresentaram menos atividade alelopática (KOMAI; TANG; NISHIMOTO, 1991).

4 CONCLUSÃO

Como um todo, estes resultados sugerem que a utilização de óleo de nim apresentou ação bioerbicida especialmente sobre a germinação de sementes e sobre o desenvolvimento da radícula das duas espécies de plantas daninhas. Esse aspecto revela, embora preliminarmente, a possibilidade de se usar o óleo de sementes de Nim em estratégia de manejo de plantas daninhas, com ênfase especial às áreas de pastagens cultivadas, onde malícia e mata-pasto se constituem em plantas daninhas com papel bioeconômico relevante.

AGRADECIMENTOS

Somos muito gratos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo aporte financeiro.

REFERÊNCIAS

AN, M.; JOHNSON, I.R.; LOVETTE, J.V. Mathematical modeling of allelopathy: biological response to allelochemical and its interpretation. *Journal of Chemical Ecology*, v.19, n.10, p.2379-2389, 1993.

BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeitos do óleo de *Piper aduncum* no controle e pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, n.5, p.555-557, 2004.

BORGES, F.C. *Estudo fitoquímico alelopático e farmacológico de constituintes químicos das folhas de *Virola michelli* (Heckel) e *Virola surinamensis* (Rol. Warb.)*. 2003. 148p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2003.

CAVALCANTE, G.M.; MOREIRA, A.F.C.; VASCONCELOS, S.D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essenciais florestais sobre mosca-branca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, n.1, p.9-14, 2006.

DUKE, S.O.; ROMAGNI, J.G.; DAYAN, F.E. Natural products as source from new mechanisms of herbicidal action. *Crop Products*, v.19, n.8, p.583-589, 2000.

_____; DAYAN, F.E.; RIMANDO, A.M.; SCHIRADER, K.K.; ALIOTTA, G.; OLIVA, A.; ROMAGNI, J.G. Chemical from nature for weed management. *Weed Science*, v.50, n.2, p.138-151, 2002.

KOMAI, K.; TANG, C.S.; NISHIMOTO, R.K. Chemotypes of *Cyperus rotundus* in Pacific Rim and inhibitory of their essential oils. *Journal Chemical Ecology*, v.17, n.1, p.1-11, 1991.

KWAK, S.H.; KIL, B.S.; SOH, W.Y. Allelopathy effects of *Chamaecyparis obtuse* In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G.; CUTLER, H.G. (Ed.). *Recent advances in allelopathy*. Cádiz: International Allelopathy Society, 1999. p. 121-148.

LIANG, G.M.; CHEN, W.; LIU, T.X. Effects of three neem-based insecticides on diamondback moth (Lepidoptera: plutellidae) *Crops Protection*, v.22, n.2, p.313-340, 2003.

MOSSINI, S.A.G.; KEMMELMEIER, C. A árvore Nim (*Azadirachta indica*. A. Juss.): múltiplos usos. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, Buenos Aires, v.24, n.1, p.139-148, 2005.

NEVES, B. P., OLIVEIRA, I. P., NOGUEIRA, J. C. M. *Cultivo e utilização do Nim Indiano*. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. 12p. (Circular Técnica, 62).

- PONTES, J.J.; PONTES, E.G. Utilização da manipuera como defensivo e fertilizantes agrícolas: novos avanços. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 2006, Belém. *Anais...* Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. p.43-52.
- RICE, E.L. *Allelopathy*. New York: Academic Press, 1984. 422p.
- RIZIVI, SGH.; RIZIVI, S. J. H.; TAHIR, M; RIZVI, V.; KOHLI, R. K.; ANSARI, A. Allelopathic interaction in agroforestry systems. *Critical Reviews in Plant Science*, v.18, p.773-796, 1999.
- ROCHA, F.S.; CAMPOS, V.P.; SOUZA, R.M. Efeito de exsudatos radiculares em endósporos de *Pasteuri penetrans* e em juvenis do segundo estágio de *meloidogyne* incógnita. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, n.6, p.644-650, 2004.
- ROMAGNI, J.G.; DUKE, S.O.; DAYAN, F.E. Inhibition of plant asparagine synthetase by monoterpene cineol. *Plant Physiology*, v.123, n.2, p.725-732, 2000.
- SALGADO, S.M.L.; CAMPOS, V.P. Eclosão e mortalidade de *meloidogyne exigua* em extratos e produtos naturais. *Fitopatologia Brasileira*, v.28, n.2, p.166-170, 2003.
- SAS INSTITUTE. *Statistical Analyses System. Version 6.4*. North Caroline, 1989. 846p.
- SCHMUTTERRER, H. Proprieties and potential of natural pesticides from the neem tree. *Annual Review Entomology*, v.35, n.3, p.271-298, 1990.
- SILVA, G.; ORREGO, O.; HEPP, R.; TAPIA, M. Búsqueda de plantas com propriedades inseticidas para el control de *itophilus zeamais* em maiz almacenado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.40, n.4, p.11-17, 2005.
- SOUZA FILHO, A.P.S. Alelopatia: das primeiras observações aos atuais conceitos. In: SOUZA FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M. (Ed.). *Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. p.15-23.
- SOUZA FILHO, A.P.S. *Alelopatia e as plantas*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 2006. 159p.
- _____; ALVES, S.M.; Potencial alelopático de plantas de acapu (*Vouacapoua americana*): efeitos sobre plantas daninhas de pastagens. *Planta Daninha*, v.18, n.3, p.435-441, 2000.
- _____; DUTRA, S.; SILVA, M.A.M.M. Métodos de superação da dormência de sementes de plantas daninhas de pastagens cultivadas da Amazônia. *Planta Daninha*, v.16, n.1, p.2-11, 1998.
- TARAYRE, M.; THOMPSON, J.D.; ESCARRE, J.; LINHART, Y.B. Intra-specific variation in the inhibitory effects of *Thymus vulgaris* (Labiatae) monoterpenes on seed germination. *Oecologia*, v.101, n.1, p.110-118, 1995.
- VILHENA, K.S.S. *Estudo químico e atividade alelopática dos extratos brutos e do óleo essencial dos rizomas de *Cyperus articulatum* L. e *Cyperus giganteus* Vahl. (Cyperaceae)*. 2006. 130p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2006.
- XIANG, L.; XIANG D.; WANG, W.; WANG, R.; DING, Y.; DU, L. Alkaloids from *Portulaca oleraceae* L. *Phytochemistry*, v.66, n. 2, p.2595-2601, 2005.