

## Comparação da atividade antifúngica do óleo comercial e do extrato etanólico das folhas de nim (*Azadirachta indica* Juss) frente a fungos fitopatogênicos

Fungicidas são responsáveis por contaminações ambientais, sendo também prejudiciais à saúde humana. Os malefícios causados por esses produtos sintéticos têm levado à busca por métodos de controle alternativo, como substâncias oriundas de extratos e óleos vegetais. Inúmeras pesquisas científicas já constataram o potencial antifúngico do óleo e de extratos de nim (*Azadirachta indica* Juss), sendo que o óleo se tornou um produto comercializado por inúmeras marcas, indicado para pulverizações na agricultura. Nesse contexto, este trabalho objetivou comparar a atividade antifúngica do óleo comercial e do extrato etanólico obtido das folhas frescas de nim frente a fungos fitopatogênicos. Para isso, avaliou-se a Concentração Mínima Inibitória (CMI) e a Concentração Fungicida Mínima (CFM) de ambos os produtos frente a *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Aspergillus parasiticus* nas concentrações de 1000 a 15,625 µg.mL<sup>-1</sup>. Tanto o óleo, quanto o extrato etanólico de nim apresentaram atividade antifúngica, sendo inibitórios frente a *M. phaseolina* na concentração mínima de 250 µg.mL<sup>-1</sup>, sobre *F. oxysporum* na concentração mínima de 250 µg.mL<sup>-1</sup> (óleo) e 500 µg.mL<sup>-1</sup> (extrato) e ambos frente a *S. sclerotiorum* e *A. parasiticus* na concentração mínima de 1000 µg.mL<sup>-1</sup>. Entretanto, somente o extrato etanólico de nim apresentou atividade fungicida frente a *F. oxysporum* e *M. phaseolina* na concentração mínima de 500 µg.mL<sup>-1</sup> e de 1000 µg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Sendo assim, o extrato etanólico das folhas frescas de nim apresentou ser um potencial substituto ao óleo comercial de nim, o que o torna vantajoso por poder ser obtido facilmente em propriedades rurais, sem a necessidade do uso de equipamentos sofisticados e a um custo reduzido, atuando no controle alternativo de fungos fitopatogênicos.

**Palavras-chave:** Controle alternativo; Produtos naturais; Microorganismos.

## Comparison of antifungal activity of commercial oil and ethanolic extract of neem (*Azadirachta indica* Juss) leaves against phytopathogenic fungi

Fungicides are responsible for environmental contamination and are also harmful to human health. The harm caused by these synthetic products has led to the search for alternative control methods, such as substances derived from plant extracts and oils. Numerous scientific research has already found the antifungal potential of oil and neem extracts (*Azadirachta indica* Juss), and the oil has become a product marketed by numerous brands, suitable for spraying in agriculture. In this context, this study aimed to compare the antifungal activity of commercial oil and ethanol extract obtained from fresh neem leaves against phytopathogenic fungi. For this, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Fungicide Concentration (CFM) of both products against *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Aspergillus parasiticus* at 1000 to 15,625 µg.mL<sup>-1</sup> were evaluated. Both the oil and the ethanol extract of neem showed antifungal activity, being inhibitory against *M. phaseolina* at a minimum concentration of 250 µg.mL<sup>-1</sup>, and *F. oxysporum* at a minimum concentration of 250 µg.mL<sup>-1</sup> (oil) and 500 µg.mL<sup>-1</sup> (extract) and both against *S. sclerotiorum* and *A. parasiticus* at a minimum concentration of 1000 µg.mL<sup>-1</sup>. However, only the ethanolic extract of neem showed fungicidal activity against *F. oxysporum* and *M. phaseolina* at a minimum concentration of 500 µg.mL<sup>-1</sup> and 1000 µg.mL<sup>-1</sup>, respectively. Thus, the ethanolic extract of fresh neem leaves has been shown to be a potential substitute for commercial neem oil, which makes it advantageous because it can be obtained easily on farms without the need for sophisticated equipment and at a reduced cost, acting in the alternative control of phytopathogenic fungi.


**Keywords:** Alternative control; Natural products; Microorganisms.


Topic: **Agroecologia**


Received: **05/08/2018**


Approved: **16/08/2018**


Reviewed anonymously in the process of blind peer.

**Aline Aparecida Munchen Kasper**   
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/6191998314534966>  
<http://orcid.org/0000-0003-2613-5125>  
[aliny\\_msn@hotmail.com](mailto:aliny_msn@hotmail.com)

**Sara Freitas de Sousa**   
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/0444579834038751>  
<http://orcid.org/0000-0002-1305-8514>  
[sara\\_freitas\\_stm@hotmail.com](mailto:sara_freitas_stm@hotmail.com)

**José Jeosafá Vieira de Sousa Júnior**   
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/2162716940839053>  
<http://orcid.org/0000-0001-8790-0711>  
[josejeosatajrstm@hotmail.com](mailto:josejeosatajrstm@hotmail.com)

**Sílvia Katrine Silva Escher**   
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/6999618172919722>  
<http://orcid.org/0000-0002-9408-131X>  
[katrineescher@hotmail.com](mailto:katrineescher@hotmail.com)

**Lauro Euclides Soares Barata**   
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/1609747051706094>  
<http://orcid.org/0000-0003-0909-769X>  
[lauroesbarata@gmail.com](mailto:lauroesbarata@gmail.com)



DOI: 10.6008/CBPC2179-6858.2018.006.0007

### Referencing this:

KASPER, A. A. M.; SOUSA, S. F.; SOUSA JÚNIOR, J. J. V.; ESCHER, S. K. S.; BARATA, L. E. S.. Comparação da atividade antifúngica do óleo comercial e do extrato etanólico das folhas de nim (*Azadirachta indica* Juss) frente a fungos fitopatogênicos. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.9, n.6, p.54-62, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.006.0007>

## INTRODUÇÃO

As doenças fúngicas são responsáveis por perdas significativas na produção agrícola. A demanda crescente de alimentos traz a necessidade de controle dessas doenças, atualmente realizado com tratamento convencional, utilizando agrotóxicos. Embora esses produtos contribuam de maneira significativa para reduções nas perdas agrícolas, o uso indiscriminado e ininterrupto desses agroquímicos tem levado a contaminações ambientais, surgimento de patógenos resistentes, e eliminação de agentes de controle biológico natural (SOYLU et al., 2010).

Além disso, a crescente preocupação da população em consumir alimentos saudáveis e a preservação do meio ambiente, tem tornado o uso de agentes químicos uma prática questionável. A produção de alimentos com uma mínima degradação dos recursos naturais é uma exigência da sociedade, e nesse contexto, destacam-se os alimentos portadores de selos que certificam a não utilização de agrotóxicos no processo produtivo (SILVA et al., 2010).

A utilização de produtos naturais, como agentes de controle alternativo de fungos fitopatogênicos, tem sido amplamente avaliada nos últimos anos. Inúmeros autores já constataram que os produtos naturais, como extratos e óleos essenciais contém metabólitos secundários que demonstram atividade potencial no manejo de doenças de plantas (TRIANA et al., 2009; ABDOLAHY et al., 2010; SILVA et al., 2010; DAN et al., 2010; GARCIA et al., 2012; HILLEN et al., 2012).

Os metabólitos secundários são fundamentais a sobrevivência dos organismos que os produzem. A diversidade estrutural desses compostos faz com que sejam de grande interesse para a espécie humana, sendo utilizados na pesquisa e desenvolvimento de fármacos, produtos alimentícios, cosméticos e agroquímicos. Além das propriedades biológicas, os produtos naturais são biodegradáveis, ocasionando menos danos ao meio ambiente (CELOTO et al., 2008; MISHRA et al., 2011; OOTANI et al., 2011).

O nim, *Azadirachta indica* Juss, árvore da família *Meliaceae* que alcança de 10 a 15 metros de altura, é uma planta originária da Índia, apresenta crescimento rápido, produz madeira avermelhada e resistente a herbivoria. O nim foi introduzido em 1984 no Brasil, estando atualmente presente em todas as regiões do país, adaptando-se bem principalmente ao clima das regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste (MARTINEZ, 2002; GUMIERO, 2008).

O nim adapta-se bem a solos com baixa fertilidade, como solos com pH ácido, com baixos teores de nutrientes, pobres em matéria orgânica e altos teores de alumínio. Suporta longos períodos de estiagem e altas temperaturas, mas não tolera temperaturas baixas. Quando adultas, as árvores de nim fornecem madeira resistente, característica essa que existe por não sofrer ataques de cupins. São também indicadas para recuperação de áreas degradadas e reflorestamento, e podem atuar como barreiras naturais no controle de pragas para outras culturas agrícolas. Além disso, o nim tem alta taxa de fotossíntese, liberando mais oxigênio para a atmosfera quando comparado a outras espécies (FORIM, 2006; GIRISH et al., 2008; VILELA, 2008; NEVES et al., 2008, SILVA et al., 2013).

A espécie tem sido alvo de inúmeros estudos científicos nas últimas décadas devido às substâncias bioativas presentes em suas folhas, frutos e sementes, que apresentam baixa toxicidade aos vertebrados; são seletivas, não mutagênicas, biodegradáveis e causam pouco impacto ao meio ambiente. Por isso, o nim tem se tornado matéria-prima para produtos de inúmeros setores, como inseticidas, fármacos e cosméticos, incentivando o cultivo da espécie (MARTINEZ, 2002; FORIM, 2006).

Há mais de 4000 anos, todas as partes do nim são utilizadas na medicina tradicional e Ayurvédica (HASHMAT et al., 2012). A atividade anticâncer de extratos metanólicos das folhas das plantas tem sido avaliada em pesquisas recentes (SCHUMACHER et al., 2011). A ação espermicida do nim foi comprovada cientificamente, e um produto a base da espécie foi desenvolvido e é amplamente comercializado para esse fim na Índia (SINHA et al., 1985). Geduina e azadirone, isoladas dos frutos da espécie, apresentaram atividade antimalárica, confirmando a indicação popular do nim na cura dessa enfermidade (VILELA, 2008; CHIANISE et al., 2010).

Os principais metabólitos secundários presentes no nim pertencem a classe dos isoprenoides, sendo diterpenos e triterpenos (mais especificamente, limonoides). O óleo de nim também é rico em ácidos graxos. Já foram isolados mais de 135 diterpenos e triterpenos, sendo a azadiractina isolada das folhas, frutos e sementes da espécie, composto considerado de maior importância. A tal substância é atribuída a ação inseticida do óleo e extratos, em sinergismo com outros triterpenoides, geduinas, nimbinm e limonoides. Embora a azadiractina seja ativa frente a amplo espectro de insetos, não afeta seus hospedeiros nem seus predadores naturais (NEVES et al., 2005; RIBEIRO et al., 2008; BENÍCIO et al., 2010; BRASIL, 2010; MACIEL et al., 2010).

A atividade antifúngica de produtos naturais obtidos de nim frente a fungos fitopatogênicos já foi relatada por diversos autores (MEDICE et al., 2007; CARNEIRO et al., 2007; MELLO et al., 2005; SINDHAN et al., 1999; CARNEIRO et al., 2008). Devido a essa atividade, o óleo de nim tornou-se um produto comercial, sendo indicado na agricultura para pulverizações em geral, entretanto o preço do produto pode restringir seu uso. Nesse sentido, extrato etanólico obtido de folhas frescas de nim pode representar uma alternativa viável, já que o mesmo pode ser preparado em propriedades rurais, sem a necessidade do uso de equipamentos sofisticados e a um custo reduzido, atuando no controle alternativo de fungos fitopatogênicos.

Sendo assim, esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de comparar a atividade antifúngica do óleo comercial de nim e do extrato etanólico obtido das folhas frescas de nim frente a *Aspergillus parasiticus*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium oxysporum*, fungos responsáveis por grandes perdas agrícolas.

## METODOLOGIA

O óleo de nim foi obtido no comércio local de Santarém (PA), com o nome 'Óleo de Neem'. A embalagem contendo 1L do produto continha no rótulo as seguintes informações: 'produto natural, recomendado para pulverizações na agricultura em geral, princípio ativo: azadiractina, aplicar em temperatura amena, não misturar com produtos alcalinos, manter o produto em local arejado, seco e fora

da luz solar, deixar fora do alcance de crianças e animais domésticos. Validade do produto: novembro de 2018’.

Para a obtenção do extrato etanólico de folhas frescas de nim, as folhas foram coletadas na Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Unidade Tapajós. As folhas foram higienizadas em água corrente e extraídas em duplicata com etanol 96GL em banho-maria a 60°C por 8h. Os extratos foram concentrados em evaporador rotativo a pressão reduzida (TAUBE JUNIOR et al., 2014).

O controle positivo foi realizado com o fungicida sintético Azimut®, utilizado para o controle de doenças fúngicas de inúmeras culturas, dentre elas arroz, feijão, milho, soja, trigo, banana, melão e tomate. Os microrganismos fúngicos utilizados no ensaio foram *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Macrophomina phaseolina*. Os fungos foram obtidos do acervo do Laboratório de Microbiologia, da Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA e do Laboratório de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. Para avaliar a atividade antifúngica, foi determinada a Concentração Mínima Inibitória (CMI) a partir da microdiluição, utilizando-se de microplacas estéreis de 96 poços onde foi posto 100 µL em cada poço do meio Batata-Dextrose (BD).

As suspensões foram ajustadas na escala 0,5 MacFarland, com caldo BD estéril a 0,9% em espectrofotômetro, à densidade ótica de 0,284 e comprimento de onda 530nm, equivalente a 10<sup>4</sup> esporos/mL. Os tratamentos foram avaliados em quadruplicata. Nas primeiras quatro colunas foi avaliada a atividade antifúngica do óleo de nim, nas quatro colunas centrais a atividade do extrato etanólico de nim e nas últimas quatro colunas a atividade do fungicida Azimut®. Após a inserção dos tratamentos na primeira linha da microplaca, o conteúdo dos poços foi homogeneizado com o meio de cultura e transferido para os orifícios da segunda linha, repetindo-se o processo até a penúltima linha, sendo os 100µL finais desprezados. As concentrações avaliadas foram de 1000 a 15,625µg.mL<sup>-1</sup>.

Em cada poço foi adicionado 10µL da suspensão fúngica. Na última linha das placas avaliou-se a esterilidade do meio de cultura, o controle positivo utilizando o antifúngico Azimut® a 0,1% e a viabilidade dos patógenos, as placas foram seladas com filme plástico. As placas foram incubadas em estufa a 25°C por 96h. Após este período de incubação, foram adicionados 10µL de solução a 0,1% de revelador químico Resazurina®, sendo as placas reincubadas por 2h. A CMI foi definida como a menor concentração da amostra capaz de impedir o crescimento fúngico, através da observação da coloração azulada conferida ao meio pelo revelador químico, quando as células apresentam atividade respiratória após a revelação ocorre uma reação de oxirredução, na qual a resazurina é convertida a resorufina, característica por sua coloração rosada (COSTA, 2002).

O conteúdo dos poços que permaneceram com coloração azul foi semeado em placas de Petri contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar). As placas foram reincubadas em estufa a 25°C por 96h. Após o tempo de incubação a verificação da ausência de crescimento fúngico nas placas revela a menor concentração de óleo ou extrato necessária para que a amostra seja considerada fungicida (Concentração Fungicida Mínima – CFM) (COSTA, 2002).

## RESULTADOS

Na tabela 1, estão descritas as Concentrações Mínimas Inibitórias (CMI), expressas em  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , do óleo comercial e do extrato etanólico das folhas frescas de nim, frente aos fitopatogênicos teste. Foi constatada menor concentração inibitória correspondente a  $250\mu\text{g.mL}^{-1}$  do extrato etanólico de nim no controle de *Macrophomina phaseolina*. O óleo comercial de nim também foi efetivo nessa concentração frente ao mesmo patógeno e a *Fusarium oxysporum*.

**Tabela 1:** Concentração Mínima Inibitória (CMI) em  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  do óleo comercial de nim e do extrato etanólico das folhas frescas de nim (*Azadirachta indica* Juss) frente *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

Microrganismo	CMI ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	
	Óleo comercial de nim	Extrato etanólico de nim
<i>Macrophomina phaseolina</i>	250	250
<i>Fusarium oxysporum</i>	250	500
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	1000	1000
<i>Aspergillus parasiticus</i>	1000	1000

Na tabela 2, estão descritas as Concentrações Fungicidas Mínimas (CFM), expressas em  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , do óleo comercial e do extrato das folhas de nim, frente aos fitopatogênicos teste. Quando o tratamento inibe o crescimento fúngico, ele é considerado fungistático, caso haja a morte do microrganismo, o tratamento é fungicida. Apenas o extrato etanólico das folhas frescas de nim apresentou efeito fungicida frente a *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium oxysporum*. Os demais tratamentos foram fungistáticos nas concentrações avaliadas.

**Tabela 2:** Concentração Fungicida Mínima (CFM) em  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  do óleo comercial de nim e do extrato etanólico das folhas frescas de nim (*Azadirachta indica* Juss) frente *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

	CFM ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	
	Óleo comercial nim	Extrato etanólico de nim
<i>Macrophomina phaseolina</i>	*	1000
<i>Fusarium oxysporum</i>	*	500
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	*	*
<i>Aspergillus parasiticus</i>	*	*

**Legenda:** \*efeito fungistático nas concentrações avaliadas.

## DISCUSSÃO

As propriedades inseticidas e antimicrobianas do nim já foram constatadas frente a inúmeras pragas que causam grandes perdas agrícolas, como a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (VIANA et al., 2000), mosca das frutas *Ceratitis capitata* (NAKANO et al., 2001); pulgões *Brevicoryne brassicae* e *Myzus persicae* (CARVALHO et al., 2008), oídio do feijoeiro (CARNEIRO et al., 2007); bactérias *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* em tomate e pimentão (ABBASI et al., 2003); mosca-branca (BLEICHER et al., 2007); broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (*Coleoptera: Scolytidae*) (DEPIERI et al., 2010); entre outras.

Devido a essas propriedades, o óleo de nim tornou-se matéria-prima de vários produtos utilizados no controle alternativo de fitopatogênicos. Ao se comparar o efeito antifúngico do óleo comercial de nim e do extrato etanólico de folhas frescas de nim, constatou-se que o óleo apresentou atividade inibitória sobre *F.*

*oxysporum* na concentração mínima de 250µg.mL<sup>-1</sup>, enquanto o extrato etanólico de nim foi inibitório na concentração mínima de 500µg.mL<sup>-1</sup>. Contudo, ao semear os poços com as concentrações mínimas inibitórias em placas de Petri contendo meio de cultura BDA, não se observou crescimento fúngico nas placas tratadas com 500µg.mL<sup>-1</sup> de extrato etanólico de nim, indicando que essa concentração foi fungicida.

Ao se comparar a atividade de extratos aquosos de folhas secas e frescas de nim, Abgenin et al. (2006) constatou que o extrato de folhas secas inibiu completamente o crescimento micelial de *F. oxysporum* em todas as concentrações, enquanto extrato das folhas frescas de nim reduziu o crescimento micelial nas maiores concentrações.

Ambos os tratamentos apresentaram atividade antifúngica frente a *M. phaseolina* na concentração mínima de 250µg.mL<sup>-1</sup>; todavia, após semeadura dos poços contendo a concentração mínima inibitória, não foi observado crescimento fúngico na concentração de 1000µg.mL<sup>-1</sup> de extrato etanólico de folhas frescas de nim, indicando que o tratamento foi fungicida. Em estudos realizados por Bhutta et al. (1999), o extrato obtido de sementes de nim também inibiu o crescimento de *Alternaria alternata* e *Macrophomina phaseolina*.

Foi constatada a atividade fungistática do óleo comercial e do extrato etanólico de nim frente a *A. parasiticus* e a *S. sclerotiorum* na concentração mínima de 1000µg.mL<sup>-1</sup>. Ao se estudar a inibição de aflatoxinas por extrato de folhas e sementes de nim, verificou-se que o extrato aquoso contendo 50% das folhas de nim inibiu 90% da produção de aflatoxinas em micélios fúngicos de *A. parasiticus*, enquanto o extrato de sementes inibiu apenas 65%. Em estudo realizado por Mello et al. (2005) o óleo de nim reduziu o crescimento micelial e a formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* nas concentrações de 0,25, 0,5 e 2%.

Sendo assim, o óleo comercial de nim apresentou apenas efeito fungistático frente aos fitopatógenos nas concentrações avaliadas. Ao estudar a atividade antifúngica do óleo de nim, Medice et al. (2007) constatou que o mesmo reduziu a germinação de uredioniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, causador da ferrugem asiática da soja. De acordo com Carneiro et al. (2007), o óleo de nim apresentou efeito preventivo do oídio de feijoeiro, causado por *Erysiphe polygoni*. O óleo de nim também reduziu o número de esporos de *Phaeoisariopsis griseola* e foi efetivo no controle da mancha angular do feijoeiro (CARNEIRO et al., 2008). Cercosporiose do amendoim foi controlada com óleo de nim a 0,5% e 1%, com aumentos significativos na produção em relação a testemunha em estudos realizados por Srinivas et al. (2000).

Por outro lado, o extrato etanólico de nim foi fungicida frente a *M. phaseolina* e *F. oxysporum*. Ao avaliar a atividade antifúngica do extrato das folhas do nim, Sindhan et al. (1999) averiguou eficiência nas concentrações 10, 20 e 30% aplicada no início dos sintomas do oídio da ervilha. Carneiro et al. (2007) verificou que o extrato de folhas de nim foi ineficiente no controle do oídio do feijoeiro. Extratos de sementes e folhas de nim foram avaliados no controle dos fitonematoides na Índia e no Srilanka (CHEDEKAL et al., 2013). Koon et al. (2011) constatou o efeito antimicrobiano do extrato de folhas de nim frente as bactérias *Proteus vulgaris* e *Micrococcus luteus*.

O controle positivo foi realizado com o agroquímico Azimut<sup>®</sup>, um fungicida com modo de ação sistêmico dos grupos químicos Estrobilurina (Azoxistrobina) e Triazol (Tebuconazol). O fungicida apresentou, em geral, CMI maiores ou similares aos tratamentos de nim, sendo a CMI frente *M. phaseolina* igual 250µg.mL<sup>-1</sup>, sobre *F. oxysporum* 1000µg.mL<sup>-1</sup>, frente *S. sclerotiorum* e *A. parasiticus* igual 500µg.mL<sup>-1</sup>, indicando que óleo e o extrato etanólico das folhas de nim possuem potencial antifúngico similar aos agroquímicos utilizados comumente.

Os produtos naturais obtidos do nim são muito promissores, especialmente no que diz respeito ao seu uso no controle alternativo de fungos fitopatogênicos. Os metabólitos secundários presentes na espécie são biodegradáveis, apresentam pouco impacto ao meio ambiente, além de baixa toxicidade aos vertebrados. A espécie também é cultivada facilmente, já que não demanda de solos férteis e corrigidos, sendo indicada também para reflorestamento (MARTINEZ, 2002; FORIM, 2006).

Entretanto, o custo do óleo comercial de nim pode restringir o seu uso, principalmente para pequenos produtores rurais. A eficiência demonstrada pelo extrato etanólico das folhas frescas de nim indica que o mesmo pode ser utilizado em substituição ao produto comercial. O uso das folhas para a obtenção do extrato etanólico pode representar uma alternativa ao produtor, que ao cultivar árvores da espécie tem a possibilidade de preparar seu próprio produto alternativo, sem a necessidade do uso de equipamentos sofisticados e a um custo reduzido.

## CONCLUSÕES

Tanto o óleo comercial quanto o extrato etanólico de folhas frescas de nim apresentaram atividade antifúngica, sendo inibitórios contra *M. phaseolina* na concentração mínima de 250µg.mL<sup>-1</sup>, *F. oxysporum* na concentração mínima de 250µg.mL<sup>-1</sup> (óleo) e 500µg.mL<sup>-1</sup> (extrato), e ambos frente a *S. sclerotiorum* e *A. parasiticus* na concentração mínima de 1000µg.mL<sup>-1</sup>. Entretanto, somente o extrato etanólico de nim foi fungicida frente *F. oxysporum* e *M. phaseolina* nas concentrações de 500µg.mL<sup>-1</sup> e 1000µg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Deste modo, constatou-se que o uso dos produtos obtidos de nim na agricultura é promissor, embora o custo do óleo comercial possa limitar o seu uso, principalmente para pequenos produtores rurais.

Sendo assim, o extrato etanólico de folhas frescas de nim apresenta-se como um potencial substituto ao óleo comercial, já que pode ser preparado facilmente em propriedades rurais, sem a necessidade do uso de equipamentos sofisticados e a um custo reduzido, atuando no controle alternativo de fungos fitopatogênicos responsáveis por grandes perdas agrícolas.

## REFERÊNCIAS

ABBASI, P. A.; CUPPELS, D. A.; LAZAROVITS, G.. Effect of foliar applications of neem oil and fish emulsion on bacterial spot and yield of tomatoes and peppers. **Canadian Journal Plant Pathology**, Ottawa, v.25, p.41-48, 2003.

ABDOLAH, A.; HASSANI, A.; GHOSTA, Y.; JAVADI, T.; MESHKATALSADAT, M. H.. Essential oils as control agents of

postharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits. **Journal of Food Safety**, v.30, p.341-352, 2010. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2009.00211.x/>

AGBENIN, O. N., MARLEY, P. S.. In vitro assay of some plant extracts against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal

agent of tomato wilt. **Journal of Plant Protection Research**, Poznan, v.46, n.3, 2006.

BENÍCIO, D. A.; NETO, V. Q.; SOUSA, J. G.. Avaliação das propriedades físico-químicas e da composição química parcial do óleo de semente de nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss), cultivado no município de Patos - Paraíba. **Biofar: Revista de Biologia e Farmácia**, Campina Grande, v.4, n.2, 2010.

BHUTTA, A. R.; BHATTI, M. H. R.; IFTIKHAR, A.. Effect of seed diffusates on growth on seed-borne fungi of sunflower. **Helia**, Novi Sad, v.22, n.31, p.143-149, 1999.

BLEICHER, E.; GONÇALVES, M. E. C.; SILVA, L.. Efeito de derivados de nim aplicados por pulverização sobre a mosca-branca em meloeiro. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v.25, p.110-113, 2007.

BRASIL, R. B.. **Estudo fitoquímico e Atividade Fungicida do Extrato Metanólico das Folhas de *Azadirachta indica* (A. Jusseu)**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PIGNONI, E.; GOMES, J. C.. Efeito do nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) no controle da mancha angular do feijoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.3, p.6- 10, 2008.

CARNEIRO, S. M. T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. C.; GOMES, J. C.. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.1, p.34-39, 2007.

CARVALHO, G. A.; SANTOS, N. M.; PEDROSO, E. C.; TORRE, A. F.. Eficiência do óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: *Aphididae*) em couve-manteiga *Brassica oleracea* Linnaeus var. *acephala*. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.75, n.2, p.181-186, 2008.

CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. F. S.; SACRAMENTO, L. V. S.; CELOTO, F. J.. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.30, n.1, p.1-5, 2008.

CHEDEKAL, A. N.; KAYOUMI, K. N. A.. Effect of Neem (*Azadirachta indica*) Seed and Leaf Extracts on Egg Hatching and Juvenile Mortality of Root Knot Nematode. **International Journal of Advanced Life Sciences**, v.6, 2013.

CHIANESE, G.; YERBANGA, S. R.; LUCANTONI, L.; HABLUTZEL, A.; BASILICO, N.; TARAMELLI, D.; FATTORUSSO, E.; SCAFATI, T.. Antiplasmodial Triterpenoids from the Fruits of Neem, *Azadirachta indica*. **Journal Natural Products**, Ohio, n.73, p.1448- 1452, 2010. DOI: <http://doi.org/10.1021/np100325q>

COSTA, S. F.. **Método de referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica**: norma aprovada. 2 ed. Brasília: ANVISA, 2002.

DAN, Y.; LIU, H. Y.; GAO, W. W.; CHEN, S. L.. Activities of essential oils from *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* against five phytopathogens. **Crop**

**Protection**, v.29, p.295-299, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.12.007>

DEPIERI, R. A.; MARTINEZ, S. S.. Redução da sobrevivência da Broca-do-Café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (*Coleoptera: Scolytidae*), e do seu ataque aos frutos de café pela pulverização com nim em laboratório. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.39, n.4, p.632-637, 2010. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1519-566X2010000400026>

FORIM, M. R.. **Estudo Fitoquímico do Enxerto de *Azadirachta indica* sobre a *Melia azadirach***: quantificação de substâncias inseticidas. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. G.; CASSEMIRO, A.. Atividade antifúngica de óleos e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, n.1, p.48-57, 2012.

GIRISH, K.; SHANKARA, B. S.. Neem: a green treasure. **Electronic Journal of Biology**, v.4, n.3, p.102-111, 2008. GUMIERO, V. C.. **Estudo do Efeito de Respostas de Hipersensibilidade do Extrato de Nim (*Azadirachta indica*) Sobre Cultura de *Rubus fruticosus***. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

HASHMAT, I.; AZAD, H.; AHMED, A.. Neem (*Azadirachta indica* A. Juss): a nature's drugstore: an Overview. **International Research Journal of Biological Sciences**, v.1, n.6, p.76-79, 2012.

HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; MESQUINI, R. M.; CRUZ, M. E. S.; STANGARLIN, J. R.; NOZAKI, M.. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatogênicos fúngicos *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.3, p.439-445, 2012.

KOONA, S.; BUDIDA, S.. Antibacterial potencial of the extracts of the leaves of *Azadirachta indica* Linn. **Notulae Scientia Biologicae**, Cluj-Napoca, v.3, n.1, p.65-69, 2011.

MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; SILVA, R. A.; BARROS, R. S.; SOUSA, R. N.; SOUSA, L. C.; MACHADO, L. K. A.; BRITO, E. S.; SOUZA-NETO, M. A.. Atividade Inseticida in Vitro do Óleo de Sementes de Nim sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.19, n.1, p.7-11, 2010.

MARTINEZ, S. S. O. **Nim: *Azadirachta indica***: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2002.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; JUNIOR, R. G. M.; LOPES, E. A. G. L.. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.1, p.83-90, 2007.

MELLO, A. F. S.; LOURENÇO, S. A.; AMORIM, L.. Alternative products in the in vitro inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.62, n.2, p.179-183, 2005. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0103-90162005000200014>



MISHRA, B. B.; TIWARI, V. K.. Natural products: an evolving role in future drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.46, p.49-75, 2011.

NAKANO, O.. Ensaio visando o controle da mosca das frutas *Ceratitis capitata* com inseticidas na forma de isca visando o efeito esterilizante. In: CURSO DE CULTIVO E UTILIZAÇÃO DO NIM. **Anais**. Piracicaba: ESALQ, 2001.

NEVES, B. P.; OLIVEIRA, I. P.; MACEDO, F. R.; SANTOS, K. J. G.; RODRIGUES, C.; MOREIRA, F. P.. Utilização Medicinal do Nim. **Revista Eletrônica da Faculdade Montes Belos**, Goiás, v.1, n.1, p.107-118, 2005.

NEVES, E. J. M.; CARPANEZZI, A. A.. **O Cultivo do Nim para a Produção de Frutos no Brasil**. Colombo: Embrapa, 2008.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W. S.; MELLO, A. V.; DIDONET, J.; PORTELLA, A. C. F.; NASCIMENTO, I. R.. Toxicidade de óleos essenciais de eucalipto e citronela sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.27, n.4, p.609-618, 2011.

PANSERA, M. R.; VICENÇO, C. B.; PRANCUTTI, A.; SARTORI, V. C.; RIBEIRO, R. T. S.. Alternative control of the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary causes agent sclerotinia, with essential oils and plant extracts. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.7, n.3, p.126-133, 2012. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03310.x>

RAZZAGHI-ABYANEH, M.; ALLAMEH, A.; TARAHI, T.; SHAMS-GHAHFAROKHI, M.; GHORBANIAN, M.. Morphological alterations in toxigenic *Aspergillus parasiticus* exposed to neem (*Azadirachta indica*) leaf and seed aqueous extracts. **Mycophatologia**, v.159, p.565-570, 2005. DOI: <http://doi.org/10.10007/s11046-005-4332-4>

RIBEIRO, F. A.; CORREIA, T. R.; FERNANDES, J. I.; MELO, R. M. P. S.; VIEIRA, V. P. C.; BEZERRA, L. L.; SCOTT, F. B.. Atividade do Extrato de Nim Sobre o Desenvolvimento Embrionário de *Ctenocephalides felis* (Buché, 1835) (SIPHONAPTERA: PULICIDAE). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.17, p.87-91, 2008.

SCHUMACHER, M.; CERELLA, C.; REUTER, S.; DICATO, M.; DIEDERICH, M.. Anti-inflammatory, Pro-apoptotic, and Anti-proliferative Effects of a Methanolic Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Extract are Mediated Via Modulation of The Nuclear Factor-kB Pathway. **Genes Nutrition**, v.6, p.149-160, 2011.

SILVA, M. B.; MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VENZON, M.; FONSECA, M. C. M.. Uso de princípios bioativos de plantas no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.31, n.255, p.70-77, 2010.

SILVA, M. C. A.; ROSA, L. S.; VIEIRA, T. A.. Eficiência do nim (*Azadirachta indica*) como barreira natural ao ataque de *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepdoptera: Pyralidae) Sobre o Mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Acta Amazônica**, v.43, n.1, p.19-24, 2013.

SINDHAN, G. S.; HOODA, I.; PARASHAR, R. D.. Evaluation of plant extracts for the control of powdery mildew of pea. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, New Delhi, v.29, n.2, p.257-258, 1999.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, v.143, p.183-189, 2010.

SRINIVAS, T.; RAO, M. S.; REDDY, P. S.; REDDY, P. N.. Comparative effects of plant extracts and chemicals of the management of leaf spot of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Tropical Agriculture**, London, v.77, p.58-60, 2000.

TAUBE JÚNIOR, P.; CASTRO, K. C. F.; BARATA, L. E. S.. **Experimentos de química**. Santarém: UFOPA, 2014.

TRIANA, A. C.; GONZÁLEZ, D. R.. Efecto Del OleoNim 50 CE sobre el crecimiento y desarrollo in vitro de hongos fitopatogénos del arroz (*Oryza sativa* Lin.). **Fitosanidad**, v.13, n.4, p.271-276, 2009.

VIANA, P. A.; PRATES, H. T.; CRUZ, I.; WAQUIL, J. M.. The effect of aqueous extract of *Azadirachta indica* leaves on the control of *Spodoptera frugiperda* fed with corn leaves. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 21. **Anais**. Londrina: Embrapa, 2000.

VILELA, J. A. R.. **Efeito da utilização de Óleo de nim (*Azadirachta indica*) por via Dérmica e da Moxidectina por via Subcutânea na Prevenção de Infestação por *Dermatobia hominis* (LINNAEUS JR., 1781) (DIPTERA; CUTEREBRIDAE) em Bovinos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.