



Hongos Fitopatogénos y Fisiología de Semillas de Soja Producidas en Maranhão, Brasil, Después del Tratamiento con Extracto y Aceite de Neem

Phytopathogenic Fungi and Physiology of Soybean Seeds Produced in Maranhão, Brazil, After Treatment With Neem Extract and Oil

Delineide Pereira Gomes; Érica Garcia França; Cinara da Conceição S. Santana; Deisy Neves da Silva; Adiano Reinaldo Silva Costa

¹Instituto Federal de Maranhão, IFMA, Campus São Luis - Maracanã, Avenida dos Curiós, s/n - Vila Esperança, São Luís - MA, 65095-460, São Luis, MA, Brasil, delineide.gomes@ifma.edu.br; franca.eric@acad.ifma.edu.br; adianos@acad.ifma.edu.br; cinara.santana@acad.ifma.edu.br; deisyneves7@gmail.com

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad sanitaria y el potencial fisiológico de semillas de soja de cultivares producidos en cuatro polos del Maranhão, después del tratamiento con extracto y aceite de neem. Las semillas se analizaron para determinar su calidad sanitaria mediante el método del papel de filtro en una placa de Petri. También se analizó la calidad fisiológica de las muestras, utilizando la prueba de germinación y vigor. Los productos a base de neem no proporcionaron efectos tan satisfactorios sobre la calidad sanitaria de las semillas, aunque el extracto, en algunos cultivares, fue más eficiente, en comparación con el efecto de los controles y el aceite. En cuanto a la evaluación fisiológica, estos productos tienen un efecto negativo sobre el vigor y germinación, a excepción de los cultivares Tracajá y BRS Tracajá, cuando las semillas fueron tratadas con extracto acuoso de neem, y solo para BRS Tracajá como para el tratamiento con el aceite de neem.

Palabras Clave: *Glycine max*, Hongos, Germinación, Vigor, Control alternativo

Abstract

The objective of this work was to evaluate the sanitary quality and the physiological potential of soybean seeds of cultivars produced in four regions of Maranhão, after treatment with extract and acceptance of neem. The seeds were analyzed to determine their sanitary quality using the filter paper method in a Petri dish. The physiological quality of the samples was also analyzed using the germination and vigor test. The neem-based products (dry and accepted leaf extract) did not provide any satisfactory effects on the sanitary quality of the seeds, only the extract, in some cultivars, was more efficient, in comparison with the effect of controls and the oil. As for the physiological evaluation, these products have a negative effect on the vigor and germination of normal seedlings, with the exception of the cultivars Tracajá and BRS Tracajá, when the seeds were treated with an aqueous extract of neem, and soil for BRS tracajá as for the treatment with the acceptance of neem.

Key words: *Glycine max*, Fungi, Germination, Vigor, Alternative control



Introducción

In addition to the physiological problems caused by deterioration, the presence of pathogens associated with soybean seeds can reduce their quality, as they can be transmitted by the seed and negatively interfere with the germination potential, in addition to becoming a potential source of inoculum for new areas of planting (GOULART, 2005). The damages arising from the association of pathogens with seeds are not restricted to direct losses of plant population in the field, but encompass a series of factors, which together lead to the collapse of the agricultural production system (MACHADO, 1988).

It is known that the use of fungicide in the treatment of soybean seeds has been shown to be very efficient and is widely used all over the world. However, the cost of these products can often be high, depending on the product and the amount of seeds to be treated, in addition, the use of fungicides can cause negative impacts on the environment and on living beings, and for this reason, a series of requirements and restrictions regarding the use of these agrochemicals are currently required. In this context, the use of natural products based on extracts or essential oils from plants with studied potential in combating pests and diseases emerges as an alternative with low environmental impact. Among these plants is the Indian neem or neem (*Azadirachta indica* Juss), a plant that brings many benefits to agroecological agriculture, as it can be used in phytosanitary defense, being indicated in the control of pests and diseases in agriculture (MARQUES et al., 2004 ; ESPLAR, 2005; CARNEIRO et al., 2007; SILVA et al., 2011; MARCHIORI et al., 2013; SILVA et al., 2014; GOMES et al., 2016);

Given the above, to evaluate the sanitary quality (presence of phytopathogens, especially fungi) and the physiological potential of soybean seeds from cultivars produced in four poles of the State of Maranhão, indicating a possible tool in the alternative treatment of seeds, thus, a sustainable practice that aims to conserve the environment by reducing the use of pesticides..

Material y Métodos

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Suelos de la Universidad Estatal de Maranhão - UEMA, São Luís, Maranhão.

Se evaluaron semillas de cultivares de soja obtenidas en centros de producción en el estado de Maranhão, incluyendo Balsas, Chapadinha, Mata Roma y Tasso Fragoso.

Para la detección de hongos, el análisis de la calidad sanitaria de las semillas se realizó mediante el método tradicional de papel de filtro (LUCCA FILHO, 1987). Para cada cultivar evaluado, se utilizaron cuatro réplicas de 50 semillas. Las semillas se incubaron a una temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y un fotoperíodo de 12 horas bajo luz fluorescente blanca, y se examinaron individualmente bajo un microscopio estereoscópico para la detección de microorganismos después de siete días de incubación.



Luego de las pruebas sanitarias, también se evaluó la calidad fisiológica de las muestras, siendo sometidas a las pruebas estándar de germinación y vigor (Primer conteo de germinación), según las Reglas para el Análisis de Semillas (BRASIL, 1992).

Para cada cultivar, se utilizaron semillas en dos tratamientos, que fueron extracto acuoso de neem al 5% (50 g / L de agua) y aceite de neem (15 mL / L de agua). Para cada tratamiento, las semillas se colocaron en vasos limpios y esterilizados en autoclave, luego se mezclaron con productos naturales, en concentraciones predeterminadas, removiéndose con ayuda de una varilla de vidrio, cubriéndolos de manera homogénea. Las semillas se distribuyen en papel de filtro para que se sequen.

Para evaluar el efecto de los tratamientos con extracto acuoso y aceite de neem sobre la micoflora de la semilla, las semillas tratadas se sometieron a análisis de salud utilizando el método tradicional de papel de filtro como se describe anteriormente. También se evaluó el efecto del tratamiento de semillas con extractos naturales y aceite de neem sobre la calidad fisiológica de las semillas, mediante pruebas de germinación y vigor, de acuerdo con las Reglas para el Análisis de Semillas (BRASIL, 1992), como se describe.

Los experimentos se instalaron de acuerdo con un diseño estadístico completamente aleatorizado. Para las pruebas de salud, no se utilizó análisis estadístico. En cuanto a la prueba fisiológica, los datos se transformaron en $\arcsin \sqrt{\%}$, los cuales fueron sometidos a análisis de varianza por la prueba F y las medias de tratamiento comparadas por la prueba de Tukey, a un nivel de probabilidad del 5%, así como los datos de salud. y fisiología de semillas tratadas con extracto acuoso y aceite de neem.

Resultados y Discusión

Se verificó en el Cuadro 1, principalmente, una mayor incidencia de *Fusarium* sp., En las semillas de soja del cultivar BRS Sambaíba del polo Tasso Fragoso y en todos los cultivares de Balsas, y, de *Aspergillus* spp. con mayor incidencia en cultivares de los cuatro polos (Cuadro 1).

Bringel et al. (2001), quienes también trabajaron con el cultivar BRS Sambaíba de Balsas, obtuvieron porcentajes de 5% de las semillas con *Cercospora kikuchii*, 13% con *Fusarium* spp., 8.5% con *Aspergillus* spp., 7.5% con *Penicillium* sp. y 38% con *Phomopsis* spp. Jaccoud Filho et al. (2004) verificaron en lotes de semillas de soja recolectadas en varias regiones brasileñas, incluida Maranhão, una frecuencia promedio de *Phomopsis* spp. alrededor del 29,6 %, en las cosechas 2000/2001 y 2001/2002.

Según Krzyzanowski; França-neto (2003) y França neto et al. (2015) la calidad sanitaria de las semillas de soja puede verse influenciada por factores inherentes a la producción en el campo, durante el manejo, por ejemplo, y también en las etapas de cosecha, secado, procesamiento, almacenamiento, transporte y siembra. Estos investigadores mencionan que en campo estos factores están relacionados con temperaturas máximas y mínimas durante la maduración de la

semilla, así como fluctuaciones en la humedad del aire, presencia de déficits hídricos, deficiencias nutricionales en las plantas, ocurrencia de insectos, así como el uso de cosechas inadecuadas, técnicas de secado y almacenamiento.

CUADRO 1. Contenido de agua inicial y final (antes y después del almacenamiento) de semillas de 12 genotipos de girasol, producidas en Balsas, MA.

Cultivar	<i>Fusarium</i> sp.	<i>C.kikuchi</i>	<i>Phomopsis</i> sp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Rhizopus</i> sp.	Bactérias	Não ident.
BRS Sambaíba ¹	44	8	0	52	8	8	2
Pirara ¹	8	0	0	136	0	2	4
Tracajá ¹	2	0	0	54	6	5	1
Sambaíba ¹	2	0	0	51	0	0	0
BRS Candeia ¹	17	11	0	86	0	1	7
BRS Sambaíba ²	12	2	0	88	2	8	2
Sambaíba ²	18	8	5	69	11	4	5
BRS Tracajá ²	21	6	0	121	8	2	3
BRS Candeia ²	13	17	12	99	5	3	5
Candeia ³	16	6	8	130	0	2	4
Tracajá ³	12	1	0	92	1	0	1
BRS 270 RR ⁴	52	2	8	76	0	8	2
BRS 271 RR ⁴	88	16	0	96	24	4	4
FT 106 ⁴	75	9	5	80	21	3	8
BRS Carnaúba ⁴	61	12	3	76	11	1	3

¹Tasso Frágoso; ²Mata Roma; ³Chapadinha; ⁴Balsas

En el Cuadro 2, se verificó que las semillas del cultivar BRS Sambaíba de Mata Roma presentaron buena calidad en cuanto a vigor (85 %) y germinación de plántulas normales (93 %), a diferencia de las demás, que no presentaron las tasas de germinación satisfactorio (del 80 %) requerido para la soja en Maranhão (CESM, 1999).

En la investigación, los porcentajes de plántulas infectadas fueron prácticamente nulos (a excepción del cultivar BRS Sambaíba de Mata Roma) cuando se trataron con agua destilada (control), pero podemos observar que algunos cultivares que presentaron índices significativos de semillas con *Fusarium* sp., como BRS 270 RR de Balsas y BRS Sambaíba de Tasso Frágoso también mostraron bajas tasas de vigor y germinación de plántulas normales. Asimismo, al evaluar la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas de soja desde el ciclo temprano al medio, Hamawaki et al. (2002) observaron que la germinación de la semilla de soja se correlaciona positivamente con el vigor y negativamente con la incidencia de hongos, como *Fusarium semitectum*, *Phomopsis* sp. y *Colletotrichum dematium*, lo que indica la acción de estos patógenos en la reducción de la germinación de la semilla de soja.

CUADRO 2. Medios de vigor y germinación de semillas de soja de los municipios Tasso Fragoso, Mata Roma, Chapadinha y Balsas, MA.

Cultivar	Vigor	CATEGORÍAS DE PRUEBA DE GERMINACIÓN (%)								
		Plántulas normales		Plántulas normales		Plántulas normales		Plántulas normales		
BRS Sambaíba ¹	46,46 ⁵ bcd	53 ⁶	55,58 ⁵ b	68 ⁶	17,96 ⁵ b	10 ⁶	0 ⁵ b	0 ⁶	28,04 ⁵ bc	22 ⁶
Pirara ¹	43,85 bcd	48	56,08 b	69	17,96 b	10	0 b	0	27,48 bc	21
Tracajá ¹	46,48 bcd	53	61,6 ab	77	21,23 b	13	0 b	0	18,44 bc	10
Sambaíba ¹	51,21 abcd	61	58,81 b	73	21,23 b	13	0 b	0	22,71 bc	14
BRS Candeia ¹	50,66 bcd	60	58,81 b	73	21,23 b	13	0 b	0	22,71 bc	14
BRS Sambaíba ²	67,48 a	85	74,16 a	93	5,74	1	5,74 a	1	12,92 c	5
Sambaíba ²	34,71 d	33	34,71 d	31	18,11 b	10	0 b	0	50,18 a	59
BRS Tracajá ²	42,38 cd	45	55,55 b	68	19,39 b	11	0 b	0	27,28 bc	21
BRS Candeia ²	37,37 d	37	52,53 b	63	22,79 b	15	0 b	0	27,97 bc	22
Candeia ³	40,11 d	41	52,48 b	62	35,06 a	33	0 b	0	12,92 c	5
Tracajá ³	41,11 d	44	49,16 b	57	19,27 b	11	0 b	0	34,45 b	32
BRS 270 RR ⁴	45,88 bcd	51	62,17 ab	78	11,54 bc	4	0 b	0	25,77 bc	18
BRS 271 RR ⁴	60,43 ab	75	62,17 ab	78	12,92 bc	5	0 b	0	24,35 bc	17
CV (%)	13,89		10,98		23,22		249,4		25,92	
dms	16,6		16,28		11,68		1,92		16,24	

¹Tasso Fragoso; ² Mata Roma; ³ Chapadinha; ⁴ Balsas; ⁵En las columnas, los datos transformados en $\arcsen\sqrt{\%}$;

⁶En columnas, datos reales o sin transformar

Las medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%;

CV- coeficiente de variación; dms- diferencia mínima significativa

En el Cuadro 3 se observó que los tratamientos con extracto acuoso y aceite de neem fueron eficientes en algunos cultivares, entre los que destacan los cultivares BRS Tracajá y BRS Candeia del polo Tasso Fragoso, los cuales difieren significativamente de los controles. También destaca el cultivar BRS 271 RR de Balsas, que se sometió a tratamiento con extracto de neem difirió significativamente del testigo, aunque no difirió del tratamiento con el aceite.

Gomes et al. (2007a) también observaron un efecto positivo del extracto acuoso de neem en el tratamiento de semillas de soja, pues evaluaron diferentes tratamientos como el químico, alternativo (extracto acuoso de neem, citronela y eucalipto) y asepsia, notando que este último es el 1.0 %. El extracto de neem se consideró bueno en el tratamiento de semillas de soja del cultivar analizado.

Con el extracto de neem al 50 y 100 %, Ferreira et al. (2006) verificaron la reducción en la incidencia de *Aspergillus niger* asociado a semillas de embiratanha (*Pseudobombax grandiflorum*) en la que los resultados revelaron que el tratamiento con 50 % del extracto aportó 48 % de *Aspergillus* sp., El que tenía 100 % de extracto, 51 % de hongos, en comparación con 78 % de incidencia de hongos en semillas no tratadas.

CUADRO 3. Promedio de semillas de soja no contaminadas de tres centros de producción en el Estado de Maranhão tratadas con extracto acuoso y aceite de neem.

Cultivar	TRATAMIENTOS DE SEMILLAS		
	Extracto de neem	Aceite de neem	Control
BRS Sambaíba ¹	13,25 defgh	3,25 fgh	15,75 cdefgh
Pirara ¹	2 gh	0 h	9,5 efgh
Tracajá ¹	5,5 fgh	37,25 ab	25,5 abcde
Sambaíba ¹	41,25 a	17 cdefgh	31,5 abc
BRS Candeia ¹	9,75 efgh	0,25 h	13,25 defgh
BRS Sambaíba ²	23,75 abcde	14,25 cdefgh	14 cdefgh
Sambaíba ²	17 cdefgh	5,5 fgh	3,5 fgh
BRS Tracajá ²	20,75 bcdef	19 cdefg	0 h
BRS Candeia ²	28,5 abcd	19 cdefgh	0 h
Candeia ³	0,75 h	0,75 h	5,25 fgh
Tracajá ³	4,75 fgh	16,75 cdefgh	18,75 cdefg
BRS 270 RR ⁴	12,25 defgh	13,75 cdefgh	9 efgh
BRS 271 RR ⁴	24,25 abcde	15,5 cdefgh	3,75 fgh
BRS Carnaúba ⁴	4 fgh	4 fgh	0 h
FT106 ⁴	11,25 de	17 cdefgh	7,75 efgh
CV (%)		50,56	
dms		17,96	

¹Tasso Fragoso; ²Mata Roma; ³Chapadinha ; ⁴Balsas;

Las medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%;
 CV- coeficiente de variación; dms- diferencia mínima significativa

Gomes et al. (2007c) también observaron en el cultivar de soja BRS 271 RR, además de otros transgénicos, el efecto del tratamiento con aceite de neem. Observaron la incidencia de *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Cercospora kikuchii*, *Aspergillus* spp. y *Rhizopus* sp. en las semillas y verificó que el tratamiento con aceite de neem, en la concentración adoptada, no proporcionó el control de hongos en las semillas. Amaral; Bara (2005), al estudiar los efectos de otros extractos y aceite vegetal sobre hongos en semillas de soja, además de otras especies como maíz y frijol, observaron la inhibición de extractos de azafrán y corazón negro y aceite de clavo. crecimiento de *Fusarium oxysporum*.

En el Cuadro 4, la ausencia de las evaluaciones de los cultivares BRS Carnaúba y FT 106 del polo Balsas se justifica por la falta de semillas para realizar las pruebas fisiológicas posteriores a los tratamientos con neem (lo mismo se puede ver en el Cuadro 5) . Se puede observar en los resultados del ensayo fisiológico de semillas tratadas con extracto acuoso de neem que los cultivares Tracajá y BRS Tracajá de los polos Tasso Fragoso y Mata Roma, respectivamente, mostraron buen vigor (aunque todavía se considera un bajo nivel de vigor). para la especie), al compararlos con los demás cultivares, los cuales presentaron índices que ya no las caracterizan como semillas (calidad fisiológica muy por debajo del estándar), estas, sin embargo, en cuanto a la germinación de

plántulas normales, no presentaron índices satisfactorios requeridos para soja en Maranhão (CESM, 1999).

CUADRO 4. Vigor y germinación de semillas de soja de tres centros de producción en el estado de Maranhão, tratadas con extracto acuoso de neem.

Cultivar	Vigor (%)	CATEGORÍAS DE PRUEBA DE GERMINACIÓN (%)								
		Plántulas normales		Plántulas normales		Plántulas normales		Plántulas normales		
BRS Sambaíba ¹	27.91 ⁴ cde	22 ⁵	18.21 ⁴ cd	10 ⁵	32.54 ⁴ abc	33 ⁵	5.74 ⁴ abc	1 ⁵	48.45 ⁴ bc	56 ⁵
Pirara ¹	22.16 de	15	13.23 cd	6	17.46 c	9	11.54 abc	4	64.82 a	81
Tracajá ¹	63.69 a	80	53.84 a	65	24.90 bc	17	10.53 abc	5	9.98 e	3
Sambaíba ¹	55.95 ab	69	44.94 a	49	19.49 c	11	11.54 abc	4	36.87 cde	36
BRS Candeia ¹	34.33 cde	33	10.24 d	3	40.77 ab	43	9.98 abc	3	46.48 bc	51
BRS Sambaíba ²	54.77 ab	67	22.35 bcd	15	48.56 a	56	9.98 abc	3	31.20 cde	26
Sambaíba ²	36.08 cd	37	26.86 bcd	24	20.13 c	13	16.31 a	8	48.33 bc	55
BRS Tracajá ²	63.47 a	80	27.99 bcd	28	49.54 a	57	0 c	0	24.68 e	15
BRS Candeia ²	30.43 cde	26	17.28 cd	10	41.21 ab	44	5.74 abc	1	42.98 bcde	45
BRS 271 RR ³	16.53 e	9	9.98 d	3	18.99 c	10	10.53 abc	5	65.57 a	82
BRS 270 RR ³	42.70 bc	42	36.34 abc	36	26.69 bc	17	17.46 a	9	38.59 cde	38
CV (%)	17.88		34.95		27.74		57.99		17.01	
dms	18.15		23.63		20.27		12.67		18.36	

¹Tasso Fragoso; ² Mata Roma; ³ Balsas; ⁴En las columnas, los datos transformados en $\text{arc sen} \sqrt{\%}$;

⁵ En columnas, datos reales o sin transformar; CV- coeficiente de variación; dms- diferencia mínima significativa
 Las medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

Gomes et al. (2007b) también trabajaron con semillas de soja y evaluaron el efecto de extractos acuosos de neem a concentraciones de 5, 10 y 20 % sobre la micoflora y la calidad fisiológica de las semillas. Estos comprobaron que hubo una baja incidencia de hongos fitopatógenos encontrados en comparación con los controles, y que existieron diferencias significativas entre estos y los demás tratamientos en germinación y vigor, concluyendo que el extracto de neem tuvo un efecto positivo en la salud, pero negativo en germinación. En general, lo mismo también se verificó en esta investigación con respecto al extracto acuoso de neem al 5% de concentración.

El Cuadro 5 muestra que, en los resultados de la prueba fisiológica de las semillas, luego del tratamiento con aceite de neem, el cultivar BRS Tracajá del polo Mata Roma presentó semillas de buena calidad en términos de vigor (84%), sin embargo en cuanto a la germinación de plántulas normales, estas no mostraron tasas de germinación satisfactorias de acuerdo con el estándar requerido para la soja en Maranhão (CESM, 1999). También se observó que hubo una baja tasa de plántulas infectadas y una alta tasa de semillas muertas, destacando los cultivares BRS Sambaíba y Pirara de Tasso Fragoso y BRS Candeia de Mata Roma.

CUADRO 5. Vigor y germinación de semillas de soja de tres centros de producción en el estado de Maranhão, tratadas con aceite de neem.

Cultivar	Vigor (%)	CATEGORÍAS DE PRUEBA DE GERMINACIÓN (%)								
		Plántulas normales		Plántulas normales		Plántulas normales		Plántulas normales		
BRS Sambaíba ¹	25.26 ⁴ c	20 ⁵	16.43 ⁴ f	11 ⁵	21.52 ⁴ abc	14 ⁵	8.13 ⁴ bc	2 ⁵	60.73 ⁴ b	73 ⁵
Pirara ¹	5.74 d	1	0 g	0	5.74 d	1	0 c	0	85.93 a	99
Tracajá ¹	47.03 b	54	34.60 cde	33	29.08 ab	24	8.13 bc	2	41.24 c	41
Sambaíba ¹	53.45 ab	65	40.05 bcd	42	30.93 a	27	23.13 a	16	22.79 d	15
BRS Candeia ¹	50.14 ab	59	29.28 def	24	29.28 ab	24	10.49 b	4	43.85 c	48
BRS Sambaíba ²	25.26 c	20	47.41 abc	54	13.79 cd	6	0 c	0	39.16 c	40
Sambaíba ²	57.28 ab	71	47.66 abc	55	22.37 abc	15	11.19 b	5	30.59 cd	25
BRS Tracajá ²	66.99 a	84	57.30 a	70	22.41 abc	16	0 c	0	21.51 d	14
BRS Candeia ²	17.78 cd	10	22.26 ef	15	22.37 abc	15	0 c	0	57.35 b	70
BRS 271 RR ³	56.63 ab	70	50.80 ab	60	19.14 bc	11	0 c	0	33.79 cd	29
BRS 270 RR ³	44.42 b	49	38.24 bcd	38	21.50 abc	14	8.13 bc	2	43.80 c	46
CV (%)	16.58		16.78		21.05		68.06		13.50	
dms	17.18		15.06		11.20		9.18		14.54	

¹Tasso Fragoso; ²Mata Roma; ³Balsas; ⁴En las columnas, los datos transformados en $\arcsin\sqrt{\%}$;

⁵En columnas, datos reales o sin transformar; CV- coeficiente de variación; dms- diferencia mínima significativa
 Las medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey al 5%

Conclusiones

En general, el tratamiento de semillas con extracto acuoso de neem es más eficiente que el aceite para reducir la incidencia de hongos asociados a las semillas de los cultivares de soja analizados, aunque estos han mostrado un efecto negativo sobre la calidad fisiológica de la mayoría de los cultivares, excepto el vigor de los cultivares Tracajá y BRS Tracajá de los polos Tasso Fragoso y Mata Roma, respectivamente.

Referencias

AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M. T. F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. *Rev. Eletr. de Farmácia*, v.2, n.2, p. 5-8. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes*. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.



BRINGEL, J.M.M. et al. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja produzidas na Região de Balsas, Maranhão. *Summa Phytopathologica*, v. 27, n.4, p. 438-441, 2001.

CARNEIRO, S.M. de T.P.G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M.E. da C.; GOMES, J.C. Effectiveness of neem extracts in controlling the powdery mildew of bean plant. *Summa Phytopathologica*, v.33, n.1, p.34-39, 2007.

CESM-MA - Comissão Estadual de Sementes e Mudanças do Estado do Maranhão. *Normas Técnicas para Produção de Sementes*. Balsas (MA), 1999.

ESPLAR. *NIM: protetor natural contra pragas e doenças de plantas e animais domésticos*. Disponível em: <http://www.esplar.org.br/produtos/nim.htm> Acesso em: 18 out. 2005.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYŻANOWSKI, F.C.; HENNING, A. A. *Diacom: 35 anos de capacitação nos testes de tetrazólio e patologia de sementes de soja*. Revista Seed News, v.19, n.5, 2015.

FERREIRA, K. C. S. et al. Avaliação do tratamento com extrato de nim na redução da incidência de *Aspergillus niger* associados às sementes de embiratanha. *Fitopatologia Brasileira*. (Supl.), v. 31, p.312. 2006.

GOMES, D. P. et al. Comparação de métodos químico e alternativo para o controle da micoflora em sementes de soja. *Summa Phytopathologica*, (Supl.), v. 33, 2007 a.

GOMES, D. P. et al. Efeito dos extratos de nim sobre a micoflora e qualidade fisiológica de sementes de soja cultivadas no Maranhão *Summa Phytopathologica*, (Supl.), v. 33, 2007 b.

GOMES, D. P. et al. Tratamento de sementes de soja com óleo de nim. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília (Supl.), v.32. p.193. 2007 c.

GOMES, R.S.S.; NUNES, M.C.; NASCIMENTO, L.C. ; SOUZA, J.O. ; PORCINO, M.M. Eficiência de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.279-287, 2016.

GOULART, A.C.P. *Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle*. Dourados: Embrapa agropecuária oeste, 2005. 72 p.



HAMAWAKI, O.T. et al. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de genótipos de soja do ciclo precoce/médio em Uberlândia, Minas Gerais. *Fitopatologia Brasileira*, v.27, n.2, p.201-205, 2002.

JACCOUD FILHO, D.S. et al. Levantamento da incidência e estudos morfológicos do complexo *Phomopsis* em lotes de soja. *Fitopatologia Brasileira*, (Supl.), v. 29, 2004.

KRZYZANOWSKI, F.; FRANÇA NETO, J. de. B. Agregando valor à semente de soja. *Seed News*. set/out, ano VII, n. 5, 2003.

LUCCA FILHO, OA. Metodologia dos testes de sanidade de sementes. In: SOAVE, J., MACHADO, J. da C. *Patologia de sementes*. Fundamentos e aplicações. Lavras: ESAL/FAEPE, 1988, 107p.

MARCHIORI, J.J.P. et al. Estudo da capacidade inseticida do extrato de nim comercial e natural no controle do pulgão verde da couve. In: XVII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XIII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e III Encontro de Iniciação à Docência, *Anais*, 2013. Disponível em: <
http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2013/anais/arquivos/RE_0574_0574_01.pdf>.

MARQUES, R.P.; MONTEIRO, A.C.; PEREIRA, G.T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de nim (*Azadirachta indica*). *Cienc. Rural*, v. 34, n. 6, p. 1675-1680, 2004.

SILVA, G.C.; GOMES, D.P.; SANTOS, C.C. Sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. (Walp.), tratadas com extrato de folhas de nim (*Azadirachta indica* A. juss.) avaliação da germinação e da incidência de fungos. *Scientia Agraria*, Curitiba, v.12, n.1, p.019-023, Jan/Feb.. 2011.

SILVA, G.C.; SANTOS, C.C.; GOMES, D.P. Incidência de fungos e germinação de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. (Walp) tratadas com óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss). *Rev. Bras. Plantas Mediciniais*, Campinas, v.16, n.4, p.850-855, 2014.