

Efeito da calagem, da colheita e da secagem na qualidade sanitária de amendoim na seca⁽¹⁾

Claudia Antonia Vieira Rossetto⁽²⁾, Tatiana de Moraes Lima⁽³⁾,
Élson de Carvalho Viegas⁽⁴⁾, Otniel Freitas Silva⁽⁵⁾ e Anna Maria Bittencourt⁽⁵⁾

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da calagem, da época de colheita e do método de secagem na qualidade sanitária do amendoim (*Arachis hypogaea* L.), cultivar Botutatu, cultivado no campo na época da seca. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso em parcela subdividida, com quatro repetições. As parcelas foram constituídas por ausência e presença de calcário dolomítico (1,8 t/ha), as subparcelas, por quatro épocas de colheita, a partir de 104 dias após a semeadura, e as subsubparcelas, por duas condições de secagem (estufa a 30°C e ambiente a 24°C e 60% de umidade relativa do ar). Em cada colheita, foi realizada a avaliação da população de fungos no solo, nas sementes e nas vagens, assim como do potencial de produção de aflatoxina destes isolados. A calagem não interfere na população de *Aspergillus* spp. no solo e não previne sua contaminação nas vagens e nas sementes do amendoim; o atraso na época de colheita proporciona aumento da contaminação de *Aspergillus flavus* nas vagens e da produção de aflatoxina G1 e G2; as condições de secagem em ambiente propiciam maior incidência por *Rhizopus* spp. nas vagens e menor incidência por *Aspergillus flavus* nas sementes.

Termos para indexação: *Arachis hypogaea*, fungo, aflatoxina, vagem, semente, contaminação.

Effect of lime application, harvest and drying on the sanitary quality of dry-season peanut

Abstract – The objective of this work was to evaluate the effect of liming, harvest period and drying method on the sanitary quality of peanut (*Arachis hypogaea* L.) cv. Botutatu, cultivated in the field in the dry season. The experimental design was a split split plot replicated four times in completely randomized blocks. Lime levels (0.0 and 1.8 ton/ha) were applied in the plots, four different harvesting periods starting at 104 days after planting were assigned to the split plots and two conditions of drying (forced air oven at 30°C and ambient at 24°C and 60% of relative humidity) were attributed to the split split plots. Populations of soil fungus and fungus associated to the seeds and to the pods and aflatoxin production potential were evaluated at each harvest. There was no effect of liming on the *Aspergillus* spp. population in soil as well as on the pods and seeds. The delay at the time of harvest provides contamination increase of *Aspergillus flavus* in the pods and in G1 and G2 aflatoxin production; the drying conditions in ambient propitiate larger incidence for *Rhizopus* spp. in the pods and smaller incidence for *Aspergillus flavus* in the seeds.

Index terms: *Arachis hypogaea*, fungi, aflatoxins, pods, seeds, contamination.

Introdução

As sementes de amendoim são substrato favorável ao crescimento de *Aspergillus flavus* Link e *Aspergillus parasiticus* Speare e, subsequente, produção de aflatoxinas por algumas estirpes desses fungos (Dhingra & Coelho Neto, 1998). Por causa da dificuldade de separar as diferenças ecológicas, morfológicas e metabólicas, esses fungos são considerados como pertencentes ao grupo *Aspergillus flavus* (Horn et al., 1995). A toxina produzida afeta diretamente a qualidade do amendoim e dos deriva-

⁽¹⁾ Aceito para publicação em 10 de março de 2003.

⁽²⁾ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Agronomia (IA), Dep. de Fitotecnia, Caixa Postal 74511, CEP 23890-000 Seropédica, RJ. Bolsista do CNPq. E-mail: cavrosse@ufrj.br

⁽³⁾ UFRRJ, IA, Dep. de Fitotecnia. Bolsista do PIBIC/CNPq. E-mail: taty.moraes@zipmail.com.br

⁽⁴⁾ UFRRJ, IA, Dep. de Fitotecnia. E-mail: viegas@ufrj.br

⁽⁵⁾ Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, Av. das Américas, 29501, Guaratiba, CEP 23020-470 Rio de Janeiro, RJ. E-mail: ofreitas@ctaa.embrapa.br, annab@ctaa.embrapa.br

dos para o consumo alimentar animal e humano (Prado et al., 1999). Para Chiou & Tsao (1997), a evidência do envolvimento das aflatoxinas em doenças humanas tem se tornado mais forte.

A princípio, considerava-se como única fonte de inóculo o armazém; porém, segundo Dhingra & Coelho Neto (1998), as sementes podem chegar a esses locais já infectadas e infestadas com fungos e, durante o armazenamento, o crescimento destes depende da característica higroscópica das sementes.

Conforme Griffin & Garren (1976), a infecção pode ocorrer no campo por via sistêmica, pela flor, e diretamente via parede das vagens durante o desenvolvimento destas no interior do solo. Nessas condições subterrâneas, as vagens podem ser invadidas por microrganismos, pertencentes ao grupo *Aspergillus flavus*.

Os fatores ambientais e o estado de maturação das sementes podem interferir na colonização das sementes por fungos e na formação de aflatoxina no campo bem antes da maturação. Sanders et al. (1981) e Dorner et al. (1989) relataram que a colonização de sementes é inversamente proporcional à maturidade delas, sendo maior nas sementes cultivadas em temperaturas elevadas, sob condição de seca. Segundo Wilson & Stansell (1983), o estresse hídrico na fase de maturação é determinante na formação e produção de aflatoxina nas sementes não danificadas, e em maior quantidade, nas sementes com danos causados por insetos (Mehan et al., 1991).

Em relação à fertilidade do solo, a calagem tem sido recomendada para o amendoim de modo a tornar o pericarpo da vagem mais espesso (Small et al., 1989), aumentar o pH do solo e como fonte de Ca às plantas (Rossetto et al., 1998; Caires & Rosolem, 2000). Conforme Fernandez et al. (1997), as sementes provenientes de plantas submetidas à calagem induziram redução da infecção por *Aspergillus* spp. e por *Penicillium* spp. Mas o crescimento de fungos foi independente da calagem quando as plantas foram secadas à sombra; quando secadas no campo ou em estufa, o desenvolvimento de fungos foi suprimido com o aumento do conteúdo de Ca das sementes de 2,2 para 5,5 g/kg.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da calagem, da época de colheita e do método de secagem na qualidade sanitária do amendoim, cultivar Botutatu, cultivado no campo na época da seca.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em Planassolo, no período da seca (abril a agosto de 2001), empregando a cultivar Botutatu (Zanotto, 1993). O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso em parcela subdividida, com quatro repetições. As parcelas foram constituídas por ausência (0,0 t/ha) e presença de calcário dolomítico (1,8 t/ha), as subparcelas, por quatro épocas de colheitas (13/7/2001, 23/7/2001, 2/8/2001 e 12/8/2001, respectivamente, aos 104, 114, 124 e 134 dias após a semeadura), e as subsubparcelas, por duas condições de secagem (estufa a 30°C e ambiente a 24°C e 60% de umidade relativa do ar), até as sementes atingirem 90 g de água/kg de sementes.

Em cada época de colheita, foi coletado solo ao redor das vagens de dez plantas contínuas para a avaliação do inóculo presente. Essas amostras foram secadas em condições de ambiente, por 24 horas e, posteriormente, foram submetidas ao teste do teor de água do solo. Na realização da diluição em série (Mehan et al., 1991), amostras de 5 g do solo foram dissolvidas em 15 mL de água destilada e agitadas por 15 minutos. De cada diluição (10^{-2} e 10^{-3}) foram retiradas alíquotas de 0,1 mL, as quais foram distribuídas em placas contendo meio batata dextrose agarizado – BDA (200 g de discos de batata sem pele, 20 g de dextrose, 17 g de ágar e 1 L de água destilada), acrescido de NaCl a 6% e de sulfato de estreptomicina (0,03%), com base em Ito et al. (1992). As placas foram mantidas a 20°C, por sete dias, sendo cada repetição representada por três placas. Após esse período, foi feita a identificação dos fungos presentes e a contagem do número de colônias, com auxílio de microscópio. Considerou-se a incidência de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp. e *Rhizopus* spp. Cada colônia foi considerada como originária de um único propágulo de fungo. Após a contagem, calculou-se o número de unidades formadoras de colônias/g de solo (UFC). Das colônias de *Aspergillus* spp., independentemente da ocorrência por amostra, foi feita repicagem para tubos de ensaio contendo meio BDA, para posterior caracterização.

Na detecção de fungos nas vagens e nas sementes, foi realizada a distribuição de cinco fragmentos do pericarpo da vagem e de dez sementes (obtidas de vagens que foram debulhadas após imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1%, por três minutos) em meio BDA. O período de incubação foi de quatro (fragmentos) e de cinco dias (sementes), a 20°C, sob regime luminoso de 12 horas de luz. As placas foram distribuídas em blocos ao acaso, com quatro repetições. Cada repetição foi representada por quatro (fragmentos) e por cinco (sementes) placas. A avaliação foi efetuada após o período de incubação por

meio da observação das sementes e dos fragmentos do pericarpo sob microscópio estereoscópico. Diferentes colônias de *Aspergillus* spp., independentemente da ocorrência por amostra, foram repicadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA, para posterior caracterização.

Na confirmação da identificação dos isolados mantidos em tubos de ensaio, primeiramente, foi realizado o crescimento em placas contendo meio BDA, por cinco dias, a 25°C. Em seguida, na caracterização dos isolados de *Aspergillus* spp., que estão dentro do grupo *Flavus*, foi empregado o meio ADM (15,0 g de triptona, 10,0 g de extrato de levedura, 0,5 g de citrato férrico, 15 g de ágar e 1.000 mL de água destilada), conforme Bothast & Fennell (1974). Após a incubação por 72 horas a 25°C, em estufa sem luz, a presença da pigmentação laranja amarela no verso da colônia indicou reação positiva, isto é, o isolado pertence ao grupo *Flavus*.

A caracterização e a identificação das outras espécies do gênero *Aspergillus* foi realizada com base na taxonomia usada por Pitt & Hocking (1997). Para isto, foram feitos os meios de cultura CYA (1 g de K₂PO₄, 10 mL de czapek concentrado, 1 mL de micronutrientes, 5 g de extrato de levedura, 30 g de sucrose, 15 g de ágar e 1 L de água destilada) e MEA (20 g de extrato de malte, 1 g de peptona, 20 g de ágar e 1 L de água destilada). A identificação de outros fungos, tais como *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Cladosporium* spp. e *Fusarium* spp., foi baseada em Singh et al. (1992).

Na avaliação do potencial de produção de aflatoxina pelos isolados, identificados como do grupo *Flavus*, foi utilizado o método de cromatografia líquida de alta performance (HPLC), pela técnica de extração, proposta por Singh et al. (1992). Primeiramente, foram separados os tubos com os isolados em meio BDA e, destes, foram repicadas colônias para o meio YES (20 g de extrato de levedura, 0,5 g de sulfato de magnésio, 150 g de sucrose, 20 g de ágar, 1.000 mL de água destilada, 1,0 mL de traço de metal), para posterior remoção de micélio de 0,5 cm de diâmetro, após 72 horas de incubação, a 25°C, sem luz. Na fase móvel, cada disco de micélio foi macerado em cerca de 2 mL de solução de clorofórmio e acetona (9:1). Nas placas de sílica gel, foi aplicada uma alíquota de cada amostra e duas de cada solução de trabalho (5 mL e 10 mL) do padrão de aflatoxina, marca Sigma (B1, B2, G1 e G2). Em seguida, as placas foram colocadas em câmara de saturação com solução de clorofórmio e acetona, durante 15 minutos. Posteriormente, as toxinas foram identificadas sob onda longa (366 nm), por comparação das amostras com as soluções de trabalho do padrão. Assim, por meio da cor da fluorescência, pode-se identificar o metabólito secundário (aflatoxinas B1 e B2: azul; G1 e G2: verde).

Na diagnose da população de fungos no solo, a análise de variância foi realizada por diluição. As variáveis expressas em porcentagens e em UFC foram transformadas, prévia e respectivamente, em arc seno $(x/100)^{0.5}$ e em log $(x+1)$. Na comparação das médias dos tratamentos foi adotado o teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Independentemente da aplicação de calcário, com o decorrer das colheitas, houve aumento da população de *Aspergillus flavus* no solo. Na colheita realizada aos 104 dias após a semeadura (DAS) ocorreu a menor incidência deste fungo, em média de 5.125 UFC/g de solo, nas diluições 10⁻² e 10⁻³. Esta incidência não diferiu das encontradas nas colheitas realizadas aos 114 e 124 DAS (Tabela 1). Segundo Wicklow et al. (1993), este valor tem variado de 300 a 20.000, em razão do tipo de solo, da sobrevivência dos propágulos do fungo, da competição de outros fungos, das práticas agrônômicas e das condições climáticas no período. No presente trabalho, no período das colheitas realizadas aos 104 e 114 DAS ocorreu em média 7 mm de precipitação pluvial e a temperatura esteve em torno de 18°C. Já no período das colheitas realizadas aos 124 e 134 DAS não ocorreu precipitação pluvial e a temperatura média foi de 24°C. Com o decorrer das colheitas, houve redução hídrica e aumento da temperatura do ar.

Além disso, houve menor incidência de *Cladosporium* spp. nas colheitas realizadas aos 114 e 124 DAS e de *A. terreus*, nas colheitas realizadas aos 124 e 134 DAS (Tabela 1). Apenas na diluição 10⁻³ foi encontrada a *A. niger* entre as espécies de *Aspergillus* spp. e constatada maior população de *A. flavus* na área que não recebeu calcário.

Quanto à contaminação das vagens e das sementes, independentemente da secagem, não houve efeito de aplicação de calcário e da época de colheita na incidência de *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp. e *A. niger* nos pericarpos das vagens (Tabela 2). Em condição de secagem em ambiente, houve maior incidência de *Rhizopus* spp. e menor de *Penicillium* spp. nos pericarpos das vagens. O longo período de exposição às condições ambiente, provavelmente, propiciou maior infecção por *Rhizopus* spp., em razão da menor velocidade de perda de água. Resultados semelhantes foram cons-

tatados por Fernandez et al. (1997). Quanto à *A. flavus* e *Aspergillus* spp., houve efeito interativo entre a época de colheita e procedimentos de secagem (Tabela 3). Somente na colheita aos 134 DAS foi constatada menor incidência destes fungos nos pericarpos das vagens que foram submetidas à secagem em condições ambiente do que em estufa. Além disso, a menor incidência de *A. flavus* e de *Aspergillus* spp. foi encontrada em pericarpos de

vagens colhidas aos 104 DAS e secadas em condições ambiente e estufa.

Em relação a *Cladosporium* spp., houve efeito interativo entre época de colheita e aplicação de calcário. Nas colheitas realizadas aos 104 e 114 DAS, em áreas que receberam ou não calcário, foi encontrada maior incidência de *Cladosporium* spp. nos pericarpos das vagens que foram secadas em condições ambiente do que em estufa (Tabela 4).

Tabela 1. Número de unidades formadoras de colônias (UFC/g de solo) de *Cladosporium* spp., *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp., *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* e *Aspergillus* spp. (total), nas diluições 10^{-2} e 10^{-3} , em razão dos tratamentos⁽¹⁾.

Diluição	Tratamentos	<i>Cladosporium</i> spp.	<i>Rhizopus</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>A. flavus</i>	<i>A. terreus</i>	<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus</i> spp.
10^{-2}	Épocas de colheita (dias após a semeadura)							
	104	247.000a	0.000a	28.500b	5.250b	31.750a	-	37.000a
	114	147.250ab	0.000a	57.750ab	12.000b	75.000a	-	87.000a
	124	138.000b	1.000a	71.500a	13.250b	13.750b	-	27.000a
	134	206.500a	0.000a	103.250a	25.500a	18.750b	-	44.250a
	Calcário (t/ha)							
	1,8	201.625a	0.000a	60.500b	11.750a	41.750a	-	53.500a
	0,0	167.750a	0.500a	70.000a	16.250a	27.875a	-	44.125a
	CV (%)	5,01	15,69	7,52	28,73	10,49	-	26,11
	10^{-3}	Épocas de colheita (dias após a semeadura)						
104		357.500a	0.000a	80.000b	5.000b	135.000a	0.000a	140.000a
114		212.500ab	0.000a	162.500a	10.000b	100.000a	2.500a	112.500a
124		145.000b	5.000a	135.000ab	45.000b	45.000ab	0.000a	90.000a
134		447.500a	0.000a	377.500a	72.500a	22.500b	0.000a	95.000a
Calcário (t/ha)								
1,8		336.250a	0.000a	187.500a	11.250b	101.375a	0.000a	112.625a
0,0		254.000a	2.500a	190.000a	55.000a	49.875a	1.250a	106.125a
CV (%)		16,74	13,33	18,42	28,03	27,70	15,69	27,45

⁽¹⁾Para cada variável, médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Tabela 2. Porcentagem de *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp., *A. niger*, *A. flavus* e *Aspergillus* spp. (total) nos pericarpos das vagens e nas sementes de amendoim, em razão dos tratamentos⁽¹⁾.

Tratamentos	Vagens			Sementes			
	<i>Rhizopus</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>A. niger</i>	<i>Penicillium</i> spp.	<i>A. flavus</i>	<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus</i> spp.
Épocas de colheita (dias após a semeadura)							
104	40,1a	1,5a	3,4a	3,5b	1,5a	0,2a	2,9a
114	26,0a	5,7a	0,0a	12,3a	2,3a	0,0a	3,0a
124	36,8a	7,3a	0,6a	3,7b	2,5a	0,0a	2,6a
134	12,3a	3,3a	0,0a	10,8a	2,3a	0,0a	2,9a
Calcário (t/ha)							
1,8	23,2a	4,8a	0,8a	6,9a	2,1a	0,0a	2,7a
0,0	34,4a	4,1a	1,2a	8,2a	2,2a	0,1a	3,0a
Secagem							
Estufa	16,1b	5,5a	0,0a	8,4a	2,8a	0,0a	3,9a
Ambiente	41,5a	3,4b	2,0a	6,8a	1,5b	0,0a	1,8b
CV (%)	10,41	11,45	9,33	3,11	1,80	2,69	2,12

⁽¹⁾Para cada variável, médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Além disso, nas duas condições de secagem, não houve diferença de incidência deste fungo nos pericarpos das vagens que foram colhidas nas diferentes épocas, em áreas que receberam ou não calcário.

Não houve efeito de aplicação de calcário e de épocas de colheita na incidência de *A. flavus*, *A. niger* e *Aspergillus* spp. (total) nas sementes, independentemente da secagem (Tabela 2). Em condições de secagem em ambiente, as sementes apresentaram menor incidência de *A. flavus* e de *Aspergillus* spp. (total) do que as secadas em estufa. Assim, no presente trabalho, o aumento do teor de Ca no solo de 6,0 para 13 mmol_c dm⁻³, após a

calagem, foi suficiente para o desenvolvimento das sementes, mas não suficiente para a prevenção significativa da infecção de fungo. Tais resultados são discordantes de Fernandez et al. (1997), que verificaram que quando as plantas foram secadas em estufa, o desenvolvimento dos fungos foi suprimido com o aumento do conteúdo de Ca das sementes de 5,5 para 14,6 mmol_c dm⁻³.

Quanto a *Rhizopus* spp., em condição de secagem em ambiente, foi encontrada maior incidência deste fungo em sementes produzidas em áreas que não receberam calcário do que em áreas que receberam o corretivo (Tabela 5).

Comparando os dados de incidência de fungos nas vagens e nas sementes (Tabelas 2 e 3), com os apresentados na Tabela 1, observa-se que aos 104 DAS, quando as sementes estavam imaturas, com base em Rossetto et al. (1998), ocorreu menor incidência de *A. flavus* no solo e menor colonização deste fungo nas vagens, provavelmente por causa da temperatura mais amena e da disponibilidade hídrica no período, pois, para Sanders et al. (1981), a colonização das sementes é inversamente proporcional à maturidade delas, sendo maior naquelas cultivadas em temperaturas elevadas sob condição de seca. No entanto, aos 134 DAS, quando houve atraso da colheita, coincidindo com temperatura mais elevada e redução hídrica, ocorreu maior incidência de *A. flavus* no solo e maior colonização deste fungo nas vagens secadas em estufa. Horn (1995) e Horn et al. (1995) também verificaram que a seca e a elevada temperatura do solo contribuem para a infecção deste fungo.

Quanto à caracterização dos isolados do gênero *Aspergillus*, provenientes de diferentes tratamentos, 75% eram pertencentes ao grupo *Flavus* (59 isolados), conforme a reação evidenciada no meio ADM (Tabela 6). Entretanto, 59% dos isolados pertencem

Tabela 3. Porcentagem de *A. flavus* e *Aspergillus* spp. (total) nos pericarpos das vagens, e de *Cladosporium* spp. e *Fusarium* spp. nas sementes de amendoim, em razão das épocas de colheita (dias após a semeadura) e dos procedimentos de secagem⁽¹⁾.

Épocas de colheita	<i>A. flavus</i>		<i>Aspergillus</i> spp.	
	Estufa	Ambiente	Estufa	Ambiente
Vagens				
104	0,6Ab	0,0Ab	0,6Ab	0,0Ab
114	9,4Aa	15,7Aa	18,2Aa	15,7Aa
124	10,6Ba	23,2Aa	10,8Ba	23,2Aa
134	21,4Aa	6,4Ba	21,4Aa	6,4Ba
Épocas de colheita	<i>Cladosporium</i> spp.		<i>Fusarium</i> spp.	
	Estufa	Ambiente	Estufa	Ambiente
Sementes				
104	3,8Bab	11,2Aab	11,2Ab	14,5Abc
114	11,2Aa	6,5Ab	38,2Aa	6,5Bc
124	1,5Bb	13,2Aab	15,5Bb	29,8Aa
134	5,5Bab	17,0Aa	18,5Ab	22,2Aab

⁽¹⁾Para cada variável, médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey; os coeficientes de variação, em relação a *A. flavus* e *Aspergillus* spp. (total) nas vagens, foram de 9,26% e 5,28%, respectivamente e, em relação a *Cladosporium* spp. e *Fusarium* spp. nas sementes, foram de 3,52% e 4,31%, respectivamente.

Tabela 4. Porcentagem de *Cladosporium* spp., nos pericarpos das vagens de amendoim, em razão das épocas de colheita (dias após a semeadura) e da aplicação de calcário⁽¹⁾.

Épocas de colheita	Calcário (1,8 t/ha)		Calcário (0,0 t/ha)	
	Estufa	Ambiente	Estufa	Ambiente
104	86,2Ba	92,6Aa	76,2Ba	100,0Aa
114	66,2Ba	93,6Aa	62,6Ba	93,8Aa
124	88,8Ba	100,0Aa	96,6Aa	93,8Aa
134	98,0Aa	100,0Aa	96,2Aa	98,0Aa

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey; o coeficiente de variação foi de 15,38%.

Tabela 5. Porcentagem de *Rhizopus* spp. nas sementes de amendoim, em razão da aplicação de calcário e dos procedimentos de secagem⁽¹⁾.

Procedimentos de secagem	Calcário	
	1,8 t/ha	0,0 t/ha
Estufa	2,0Ab	2,0Ab
Ambiente	7,5Ba	12,5Aa

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey; o coeficiente de variação foi de 3,88%.

Tabela 6. Número de isolados analisados (IA), pertencentes ao grupo *Flavus* (AF) e com potencial aflatoxigênico (PA), obtidos de solo, de sementes e de fragmentos de pericarpo de vagens de amendoim, em razão das épocas de colheita (dias após a semeadura), da aplicação de calcário e dos procedimentos de diluição e secagem.

Épocas de colheita	Calcário (1,8 t/ha)			Calcário (0,0 t/ha)			Calcário (1,8 t/ha)			Calcário (0,0 t/ha)		
	IA	AF	PA	IA	AF	PA	IA	AF	PA	IA	AF	PA
Solo												
	Diluição 10 ⁻²						Diluição 10 ⁻³					
104	3	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
114	1	1	1	0	0	0	0	0	0	2	1	0
124	2	1	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0
134	1	1	1	1	1	1	2	0	0	3	3	2
Fragmentos do pericarpo das vagens												
	Estufa						Ambiente					
104	0	0	0	1	1	0	0	0	0	3	0	0
114	4	3	2	3	3	1	3	3	2	3	3	1
124	1	1	0	2	2	2	3	3	0	5	4	2
134	4	4	0	4	3	3	1	1	0	2	2	2
Sementes												
	Estufa						Ambiente					
104	3	2	0	2	1	1	1	1	1	1	1	1
114	3	2	2	3	3	2	0	0	0	1	0	0
124	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1
134	2	1	1	3	2	2	0	0	0	1	1	1

tes a este grupo produziram aflatoxina, detectada pelo método de extração, empregando-se o meio YES. Entre os isolados não caracterizados como do grupo *Flavus*, 85% apresentaram características morfológicas típicas de *A. niger*.

Apenas os isolados provenientes de sementes, vagens e solo na colheita aos 114 DAS apresentaram potencial para produção de aflatoxina B₂, assim como os isolados obtidos de solo e sementes na colheita aos 104 DAS. Os isolados provenientes de sementes, vagens e solo na colheita realizada aos 134 DAS apresentaram potencial para produção de aflatoxina G₁ e G₂, provavelmente, por causa da temperatura média que se manteve em torno de 24°C e da ausência de precipitação pluvial. Conforme Hill et al. (1983), períodos de seca associados a temperaturas elevadas favorecem a invasão de fungos e a contaminação com aflatoxina no solo, antes da colheita.

Conclusões

1. A calagem não interfere na população de *Aspergillus* spp. no solo e não previne sua contaminação nas vagens e nas sementes do amendoim.

2. O atraso na época de colheita proporciona aumento da contaminação de *Aspergillus flavus* nas vagens e da produção de aflatoxina G₁ e G₂.

3. As condições de secagem em ambiente propiciam maior incidência por *Rhizopus* spp. nas vagens e menor incidência por *Aspergillus flavus* nas sementes.

Referências

- BOTHAST, R. J.; FENNELL, D. I. A medium for rapid identification and enumeration of *Aspergillus flavus* and related organisms. *Mycologia*, Lawrence, v. 66, n. 3, p. 365-369, 1974.
- CAIRES, E. F.; ROSOLEM, C. A. Nodulação e absorção de nitrogênio pelo amendoim em resposta à calagem, cobalto e molibdênio. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 57, n. 1, p. 337-341, 2000.
- CHIOU, R. Y. Y.; TSAO, H. H. Aflatoxin content of single peanut kernels in commercial lots and in kernels artificially infected with *Aspergillus parasiticus*. *Journal of Food Protection*, Ames, v. 60, n. 7, p. 843-848, 1997.
- DHINGRA, O. D.; COELHO NETO, R. A. Micotoxinas em grãos. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v. 6, p. 49-101, 1998.

- DORNER, J. W.; COLE, R. J.; SANDERS, T. H.; BLANKENSHIP, P. D. Interrelationship of kernel water activity, soil temperature, maturity, and phytoalexin production in preharvest aflatoxin contamination of drought stressed peanuts. **Mycopathologia**, Dordrecht, v. 105, p. 117-128, 1989.
- FERNANDEZ, E.; ROSOLEM, C. A.; MARINGONI, A. C.; OLIVEIRA, D. M. T. Fungus incidence on peanut grains as affected by drying method and Ca nutrition. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 52, n. 1, p. 9-15, 1997.
- GRIFFIN, G. J.; GARREN, K. H. Colonization of rye green manure and peanut fruit debris by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* group in field soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 32, n. 1, p. 28-32, 1976.
- HILL, R. A.; BLANKENSHIP, P. D.; COLE, R. J.; SANDER, T. H. Effect of soil moisture and temperature on preharvest invasion of peanuts by the *Aspergillus flavus* group and subsequent aflatoxin development. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 45, n. 2, p. 628-633, 1983.
- HORN, B. W. Vegetative compatibility within populations of *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* and *A. tamarri* from a peanut field. **Mycologia**, Lawrence, v. 87, n. 3, p. 324-332, 1995.
- HORN, B. W.; GREENSE, R. L.; DORNER, J. W. Effect of corn and peanut cultivation on soil populations of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* in Southwestern Georgia. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, n. 7, p. 2472-2475, 1995.
- ITO, M. F.; BACCHI, L. M. A.; MARINGONI, A. C.; MENTEN, J. O. M. Comparação de métodos para detecção de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea*). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 18, n. 3, p. 262-268, 1992.
- MEHAN, V. K.; MAYEE, C. D.; JAYANTHI, S.; McDONALD, M. Preharvest seed infection by *Aspergillus flavus* group fungi and subsequent aflatoxin contamination in groundnuts in relation to soil types. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 136, n. 2, p. 239-248, 1991.
- PITT, J. L.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. London: Blackie Academic & Professional, 1997. 175 p.
- PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; GASSINELLI MADEIRA, J. E. C.; GODOY, I. J.; CORRÊA, B.; JUNGUEIRA, R. G.; FERREIRA, S. O. Resistência de quatro genótipos de amendoim à produção de aflatoxina B1 após inoculação com *Aspergillus flavus* Link. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 84-87, 1999.
- ROSSETTO, C. A. V.; NAKAGAWA, J.; ROSOLEM, C. A. Efeito da época de colheita e da calagem no rendimento de sementes comercializáveis de amendoim cv. Botutatu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 5, p. 665-675, maio 1998.
- SANDERS, T. H.; HILL, R. A.; COLE, R. J.; BLANKENSHIP, P. D. Effect of drought on occurrence of *Aspergillus flavus* in maturing peanuts. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, Champaign, v. 58, p. 966-970, 1981.
- SINGH, K.; FRISVAD, J. C.; THRANE, U. L. F.; MATHUR, S. B. **An illustrated manual on identification of some seed borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and their mycotoxins**. Hellerup: Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries, 1992. 133 p.
- SMALL, H.; KVIEN, C. S.; SUMMER, M. E.; CSINOS, A. S. Solution Ca concentration and application date effect on pod calcium uptake and distribution in Florunner and Tifton-8 peanut. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 12, n. 1, p. 37-52, 1989.
- WICKLOW, D. T.; WILSON, D. M.; NELSEN, T. C. Survival of *Aspergillus flavus* sclerotia and conidia buried in soil in Illinois or Georgia. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 83, n. 11, p. 1141-1147, 1993.
- WILSON, D. M.; STANSELL, J. R. Effect of irrigation regimes on aflatoxin contamination of peanut pods. **Peanut Science**, Raleigh, v. 10, n. 1, p. 54-56, 1983.
- ZANOTTO, M. D. Botutatu: nova cultivar de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 9, p. 1101-1102, set. 1993.