

FITOSSANIDADE

CONTAMINAÇÃO FÚNGICA DO AMENDOIM EM FUNÇÃO DAS DOSES DE CALCÁRIO E ÉPOCAS DE AMOSTRAGEM⁽¹⁾

CLAUDIA ANTONIA VIEIRA ROSSETTO^(2,4); ÉLSON DE CARVALHO VIEGAS⁽²⁾;
TATIANA DE MORAES LIMA^(3,4)

RESUMO

A população de fungos no solo varia de acordo com os fatores abióticos e bióticos, e, no caso do amendoim, podem contaminar as sementes, comprometendo sua qualidade. O objetivo do trabalho foi o de avaliar o efeito da calagem e da época de amostragem do solo e das vagens do amendoim na população de fungos, visando analisar a contaminação por *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp. e *Penicillium* spp. O experimento foi efetuado em Planassolo, no período das águas (outubro de 2001 a fevereiro de 2002), empregando o amendoim, cv. Botutatu. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso em parcela subdividida, com quatro repetições. As doses de calcário dolomítico (0,0 e 1,8 t.ha⁻¹) foram aplicadas nas parcelas, em dezembro de 2000 e, as subparcelas, em quatro épocas de amostragem, com intervalos de 10 dias, a partir de 104.º dia após a semeadura (DAS). Nas amostras, foram realizadas a avaliação da população de fungos no solo e sua incidência nos pericarpos das vagens e nas sementes. Os resultados permitiram concluir que nas condições deste experimento, a época de amostragem e a aplicação de calcário não interferiram na população de *Aspergillus* spp. nas amostras de solo e sua incidência nos pericarpos das vagens. Nas amostras efetuadas aos 104 e 114 DAS, período com menores teores de água no solo, houve maior número de isolados pertencentes ao grupo *Aspergillus flavus* no solo e maiores incidências desses fungos nas vagens e sementes.

Palavras-chave: *Arachis hypogaea*, população, solo, grupo *Aspergillus flavus*.

ABSTRACT

FUNGUS CONTAMINATION ON PEANUT AS AFFECTED BY LIMING AND SAMPLING TIME

Diversity of fungus populations in soil could vary according to abiotic and biotic factors. On peanut cultivated soils, these can contaminate seeds, affecting their quality. This experiment was carried out to evaluate the effects of liming and sampling time, both of soil and peanut pods, fungus populations in the soil, specially in respect to possible contamination with *Aspergillus*, *Rhizopus* and *Penicillium* species.

⁽¹⁾ Recebido para publicação em 10 de dezembro de 2002 e aceito em 31 de julho de 2003.

⁽²⁾ Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), 23890-000 Seropédica (RJ).
E-mail:cavrosse@ufrj.br

⁽³⁾ Aluna do Curso de Agronomia, UFRRJ.

⁽⁴⁾ Com bolsa do CNPq.

The experiment was installed in Planassol that was cultivated with peanut cv. Botutatu, during the raining season (October of 2001 to February of 2002). The experimental design was a subplot with four replications, in completely randomized blocks. Lime levels (0,0 and 1,8 t.ha⁻¹) were applied to the plots in December of 2000, and the subplots were harvested during four intervals of 10 days, starting at 104 days after planting (DAP). Samples were evaluated regarding fungus population in the soil and their incidence in pods and seeds. The results allowed to conclude at these experimental conditions, the sampling time and application of lime do not interfere in the soil population of *Aspergillus* species. In samples collected at 104 and 114 DAP, period with lower water contents in the soil, there was an increase of *Aspergillus flavus* group isolates in the soil and more intense incidence of this fungus in pods and seeds.

Key words: *Arachis hypogaea*, population, soil, *Aspergillus flavus* group.

1. INTRODUÇÃO

O solo pode ser fonte de inóculo de fungos, como *Aspergillus flavus* Link e *Aspergillus parasiticus* Speare, para as plantas suscetíveis à contaminação, principalmente nas regiões tropicais (ANGLE et al., 1982). Essas espécies pertencem a *Aspergillus* Secção *Flavi* (TAKAHASHI et al., 2002), usualmente referidas como grupo *Aspergillus flavus* (HORN et al., 1995; TAKAHASHI et al., 2002). Entretanto, é difícil identificar as espécies da Secção *Flavi* pelas diferenças morfológicas existentes entre os isolados (KLICH e PITT, 1988b). Em amendoim, após a fertilização aérea das flores e a extensão dos ginóforos em direção ao solo, as vagens se desenvolvem no ambiente subterrâneo, ficando em contato e sujeitas à invasão por cepas desses fungos, que freqüentemente produzem micotoxinas, dentre elas, as aflatoxinas, que atraem a atenção devido ao potencial toxigênico e carcinogênico, quando ingeridas em alimentos contaminados (HILL et al., 1983; KUMEDA e ASAO, 2001).

A população de fungos no solo pode variar de ano para ano e de local para local, por motivo de sobrevivência dos propágulos no solo (WICKLOW et al., 1993) e das práticas culturais, tais como, adubação e rotação de cultura (ANGLE et al., 1982; HORN, 1995). Para SANDERS et al. (1985), o período de seca, durante os três dos quatro meses finais do ciclo da cultura, também, contribui consideravelmente para o aumento de *Aspergillus flavus* no solo.

GRIFFIN e GARREN (1974), avaliando a população fúngica no solo, com cultivo de amendoim, detectaram de 0 a 105 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama de solo. Para MEHAN et al. (1991b), ocorrem diferenças significantes na população de fungos em vista do tipo de solo devido aos fatores relacionados à aeração, à capacidade de retenção de água e ao pH. Para os autores, em Alfissolos, que apresentam menor retenção de água (90-110 mm) e condição favorável de aeração, ocorre predomínio de *A. flavus* (4.271 a 7.219 UFC/g de solo), uma vez que essa espécie tem maior habilidade de sobrevivência sob menor disponibilidade hídrica. Já, em

Vertissolos, que apresentam maior capacidade de retenção de água (150-180 mm), os níveis de *A. flavus* são menores (218 a 340 UFC/g de solo), tanto em cultivo da seca, quando há escassez de precipitação pluvial no fim do ciclo, como no cultivo das águas. Além disso, em Vertissolos predomina *A. niger* que pode competir com *A. flavus*.

No Estado de São Paulo, maior produtor de amendoim no Brasil, tem sido recomendada a aplicação de calcário, visando aumentar o pH do solo e como fonte de cálcio às plantas (CAIRES, 1990; ROSSETTO et al., 1998). FERNANDEZ et al. (1997) constataram diminuição da incidência de *Aspergillus* spp. com a calagem. Resultado similar foi obtido com a aplicação de gesso, pois de acordo com REDING et al. (1993) e CLAVERO et al. (1994), com o aumento do teor de cálcio, as vagens tendem a ter o tegumento mais espesso e, como tal, ser menos suscetíveis à contaminação por fungos, o que pode reduzir a produção de toxinas.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a população de fungos no solo em função da calagem e da época de amostragem, de modo que se possa analisar a contaminação do amendoim cultivado no período das águas, por *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp. e *Penicillium* spp.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado com amendoim (*Arachis hypogaea* L.), no período das águas, no município de Seropédica (RJ), em Planossolo (RAMOS et al., 1973). Os dados diários de precipitação pluvial e de temperaturas máxima e mínima do ambiente, durante o período de realização do experimento, foram coletados no Posto Meteorológico da PESAGRO (Figura 1).

A semeadura foi realizada em 24 de outubro de 2001, empregando as sementes da cultivar Botutatu, derivada da cultivar Tatu, previamente tratadas com dissulfeto de tetrametil tiuran, na forma de pó-seco, à dose de 175 g do ingrediente ativo por 100 kg de sementes.

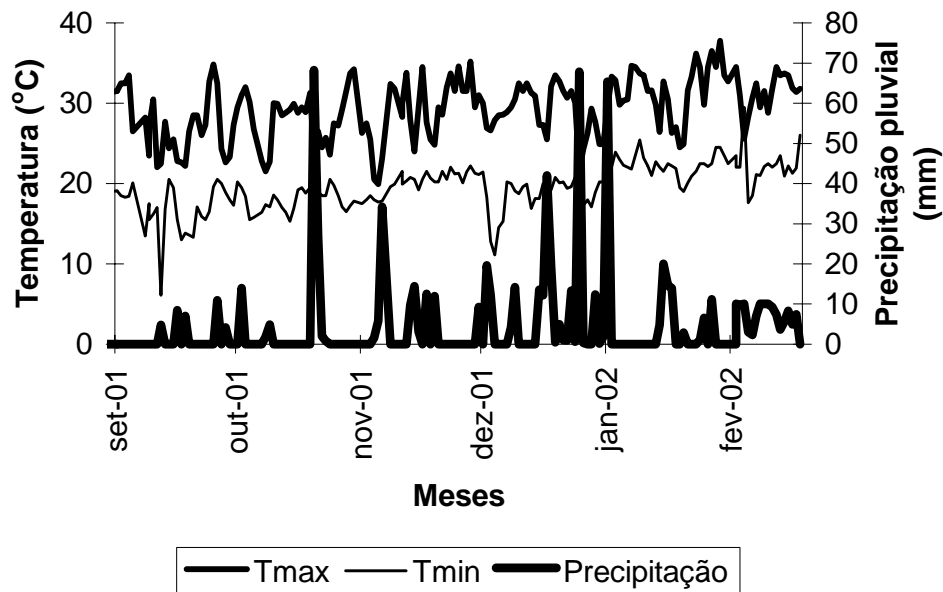


Figura 1. Dados diários de precipitação pluvial e de temperaturas máxima e mínima do ambiente, observados por ocasião da semeadura e das épocas de amostragens de solo cultivado com amendoim, cv. Botutatu, no período das águas (2001/2002).

Realizou-se a adubação com base na análise química do solo e na necessidade da cultura (ALMEIDA et al., 1988), aplicando-se em todos os tratamentos, no sulco de semeadura, 60 kg.ha^{-1} de P_2O_5 e 40 kg.ha^{-1} de K_2O , na forma de superfosfato simples e de cloreto de potássio respectivamente. As plantas desenvolveram somente sob precipitação pluvial.

Os tratos culturais e as capinas foram realizados de acordo com as recomendações para a cultura. Não foi realizado controle fitossanitário.

Por ocasião da maturação das sementes e das épocas de amostragem, também foram feitas as análises químicas de solo, de acordo com EMBRAPA (1997) (Quadro 1).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso em esquema de parcela subdividida, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por ausência ($0,0 \text{ t.ha}^{-1}$) e presença de calcário dolomítico (23,5% de CaO , 21,5 de MgO e 80% de Poder Relativo de Neutralização Total (PRNT)), aplicado em dezembro de 2000, a 20 cm de profundidade, na dose de $1,8 \text{ t.ha}^{-1}$ e, por quatro épocas de amostragem, em intervalos de 10 dias, a partir de 104.º dia após a semeadura (DAS). Assim, as parcelas (presença e ausência de calcário) foram constituídas por cinco linhas de semeadura, espaçadas de 0,6 m entre si, com 20,0 m de comprimento, e divididas em quatro subparcelas (épocas de amostragem), de 5,0 m de comprimento.

Quadro 1. Análise química das amostras de solo coletadas nas parcelas que receberam (CC) ou não (SC) calcário, durante o ciclo da cultura do amendoim cv. Botutatu, no período das águas, em 2001/2002

Tratamentos	pH (H_2O)		Ca^{2+}		Mg^{2+}		K^+		H^+Al^{3+}		V(%)	
	SC	CC	SC	CC	SC	CC	SC	CC	SC	CC	SC	CC
	cmol _c .dm ⁻³											
Antes da instalação	5,0	5,1	0,8	0,7	0,2	0,2	0,3	0,3	1,9	1,9	41	38
Semeadura	5,5	6,0	0,7	1,2	0,2	0,5	0,3	0,5	1,8	1,8	57	55
Maturação	4,5	5,5	0,6	1,0	0,2	0,4	0,3	0,4	1,9	1,8	36	50
Colheita	4,5	5,6	0,5	0,8	0,2	0,4	0,3	0,3	1,9	2,0	34	43

Por subparcela, o solo foi coletado a 10 cm de profundidade entre 10 plantas de amendoim, para a avaliação dos fungos presentes, conforme método apresentado por MEHAN et al. (1991a). As amostras foram secas em laboratório sob condições de ambiente sem controle, por 24 horas. Posteriormente, de cada amostra (subparcela), quatro subamostras de 10 g foram submetidas ao teste de teor de água do solo. Em seguida, quatro subamostras de 5 g do solo foram dissolvidas em 15 mL de água destilada e agitada por 15 minutos. Foram realizadas diluições de 10^{-4} a 10^{-1} . Um mL da suspensão de solo selecionada (diluição 10^{-2}) foi distribuído em placas contendo o meio bata-dextrose-agar (BDA), acrescido de NaCl (6%) e sulfato de estreptomicina (0,03%), conforme ITO et al. (1992), sendo três placas por subamostra.

As placas foram incubadas a 25°C, no escuro. Após sete dias de incubação, as colônias de fungos que cresceram no meio foram contadas, com auxílio de microscópio estereoscópico. Cada colônia foi considerada como originada de um único propágulo de fungo. Após a contagem, calculou-se o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por grama de solo.

Considerou-se a incidência de isolados pertencentes a *Aspergillus* Seção *Flavi*, *Aspergillus* Seção *Terrei* e *Aspergillus* Seção *Nigri*, com base na classificação descrita em KLICH e PITT (1988a) e que corresponde, de acordo com a revisão apresentada por ABARCA et al. (2000), como pertencentes, respectivamente, ao grupo *Aspergillus flavus*, grupo *A. terreus* e grupo *A. niger*, bem como o total de isolados dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*.

Na época da caracterização dos isolados do gênero *Aspergillus*, mantidos em tubo de ensaio realizou-se, primeiramente, o crescimento em placas contendo o meio BDA, por cinco dias, a 25 °C. Para diferenciar os que pertencem ao grupo *Aspergillus flavus*, não sendo considerada a distinção de *Aspergillus flavus* e de *A. parasiticus*, empregou-se o meio diferencial de *Aspergillus* (ADM), conforme BOTHAST e FENNELL (1974).

Após a incubação, por 72 horas, a 25°C, no escuro, a presença da pigmentação laranja-amarela no verso da colônia indicou reação positiva, ou seja, o isolado pertence ao grupo *Aspergillus flavus*. A identificação das outras espécies do gênero *Aspergillus* foi realizada com base na taxonomia usada por PITT e HOCKING (1997). Assim, utilizaram-se os meios de cultura czapeck-ágar-extrato de levedura (CYA) e ágar-extrato de malte (MEA), ambos a 25 °C. Cada isolado foi submetido à inoculação em quatro placas, duas em cada meio. A identificação de isolados de outros gêneros foi baseada em SINGH et al. (1992).

Na avaliação do potencial de produção de aflatoxina pelos isolados, identificados como pertencentes ao grupo *Aspergillus flavus*, utilizou-se o método de cromatografia líquida de alta performance (HPLC), pela técnica de extração, proposta por SINGH et al. (1992). Na fase móvel, o 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 µL e 10 µL) do padrão de aflatoxina, marca Sigma (B1, B2, G1 e G2). Em seguida, essas placas foram colocadas em câmara de saturação com solução de clorofórmio e acetona, durante 15 minutos. Posteriormente, as toxinas foram identificadas sob 366 nm, por comparação das amostras com as soluções de trabalho.

Também, por subparcela, realizou-se a detecção de fungos nas sementes e nos pericarpos das vagens que foram secas em estufa a 30 °C. Foram distribuídas, por amostra (subparcela), quatro subamostras de cinco fragmentos do pericarpo das vagens e cinco subamostras de 10 sementes (obtidas de vagens que foram debulhadas após imersão em solução de hipoclorito de sódio, a 2%, por 3 minutos) em meio BDA acrescido de NaCl (6%) e sulfato de estreptomicina (0,03%), conforme ITO et al. (1992). O período de incubação a 20 °C, sob regime luminoso de 12 horas de luz, para os fragmentos das vagens, foi de quatro dias e, para as sementes, de cinco dias. A avaliação foi efetuada após o período de incubação, mediante observação das sementes e dos fragmentos do pericarpo com auxílio de microscópio estereoscópico. Os demais procedimentos foram semelhantes aos descritos para identificação dos fungos nas amostras de solo.

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância. As variáveis em UFC/g e em porcentagem foram transformadas previamente em $\log x+1$ e em arco seno da raiz quadrada de $x/100$. Para a comparação de médias dos tratamentos foi adotado o teste Tukey, a 5 % de probabilidade. Nos quadros encontram-se os dados originais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas amostras de solo, não houve efeito significativo da interação entre doses de calcário e épocas de amostragem na população de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Rhizopus* spp. (Quadros 2 e 3). Independentemente da aplicação de calcário, nas amostras de solo coletadas aos 104, 114 e 124 DAS, houve maior número de isolados pertencentes ao grupo *Aspergillus flavus* do que na amostragem posterior.

Quadro 2. Dados de *Aspergillus* identificados nas amostras de solo, em função de quatro diferentes épocas de amostragem (104, 114, 124 e 134 DAS) e da avaliação da presença ou não de calcário na área de cultivo de amendoim cv. Botutatu, no período das águas, em 2001/2002

Épocas de amostragem	Grupo <i>A. flavus</i>	Grupo <i>A. terreus</i>	Grupo <i>A. niger</i>	<i>Aspergillus</i> spp. (Total)
DAS	UFC g ⁻¹			
104	34.000 a	60.250 a	2.750 b	97.000 a
114	40.000 a	48.250 a	750 b	89.000 a
124	69.750 a	34.000 a	2.750 b	106.500 a
134	27.250 b	33.000 a	22.750 a	83.000 a
Calcário				
Com	37.750 A	58.750 A	3.250 B	99.750 A
Sem	47.750 A	29.000 B	11.250 A	88.000 A
C.V. (%) Parcela	44,21	32,34	45,16	40,84
C.V. (%) Subparcela	23,83	83,51	23,12	26,96

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quadro 3. Dados de teor de água e de *Penicillium* e *Rhizopus* identificados nas amostras de solo, em função de quatro diferentes épocas de amostragem (104, 114, 124 e 134 DAS) e da avaliação da presença ou não de calcário na área de cultivo de amendoim cv. Botutatu, no período das águas, em 2001/2002

Épocas de amostragem	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Rhizopus</i> spp.	Teor de água no solo
DAS	UFC g ⁻¹		%
104	38.000 b	0.000 a	4,1 b
114	16.000 b	0.000 a	3,2 b
124	69.000 a	1.000 a	3,6 b
134	23.450 b	1.000 a	6,1 a
Calcário			
Com	42.875 A	0.000 A	4,0 A
Sem	30.350 A	0.250 A	4,5 A
C.V.(%) Parcela	44,03	165,69	12,63
C.V.(%) Subparcela	26,59	115,00	10,28

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para WICKLOW et al. (1993), esse valor variou de 300 a 20.000 UFC.g⁻¹ de solo, em vista da sobrevivência dos propágulos do fungo, da competição com outros fungos, das práticas agrônômicas, das condições climáticas no período e do tipo de solo devido aos fatores relacionados à aeração, à capacidade de retenção de água e ao pH, conforme mencionado por MEHAN et al. (1991b).

Nesses períodos, a temperatura média foi de 27,7 °C e não ocorreu precipitação pluvial (Figura 1),

como também constatado pelos menores teores de água no solo (Quadro 3).

Já, aos 134 DAS, houve precipitação pluvial e a temperatura média foi de 26,8 °C. Para SANDERS et al. (1985), o período de seca durante os três dos quatro meses finais do ciclo da cultura contribuiu para o aumento de *Aspergillus flavus* no solo. Assim, o teor de água do solo em cada amostragem pode ter interferido nos resultados, como constatado por ANGLE et al. (1982) e MEHAN et al. (1991b).

Além disso, independentemente da aplicação de calcário, também nas amostras de solo coletadas aos 104, 114 e 124 DAS, houve menor número de isolados pertencentes ao grupo *Aspergillus niger* (Quadro 2). Para HILL et al. (1983), fatores microbiológicos podem estar envolvidos, pois sob condições de déficit hídrico, *A. flavus* sobrevive, mesmo quando o crescimento de *Aspergillus niger* e a maioria dos fungos associados tendem a cessar.

Em relação aos isolados pertencentes ao grupo *Aspergillus terreus* e ao total de isolados dos gêneros *Aspergillus* e *Rhizopus*, independentemente da aplicação de calcário, o número não variou com a época de amostragem (Quadros 2 e 3).

Independentemente da época de amostragem, constatou-se aumento do número de isolados pertencentes ao grupo *Aspergillus terreus* (Quadro 2) com a aplicação de calcário, ou seja, com as alterações das características químicas do solo (Quadro 1). No entanto, nessas áreas houve diminuição do número de isolados do grupo *A. niger* (Quadro 2) e tendência de redução dos do grupo *A. flavus* (Quadro 2) e do gênero *Rhizopus* (Quadro 3). Para MEHAN et al. (1991b), as variações na população fúngica do solo podem estar relacionadas às variações do pH do solo, de ácido para alcalino.

Em relação à colonização das vagens e sementes, não houve efeito significativo da interação entre

doses de calcário e épocas de amostragem na incidência de espécies de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus* (Quadros 4, 5 e 6). Independentemente da aplicação de calcário, as maiores incidências de espécies do grupo *Aspergillus flavus* nas vagens (Quadro 4) e nas sementes (Quadro 5) foram constatadas aos 104 e 114 DAS. Nessas amostragens, verificou-se também que houve aumento do número de isolados pertencentes ao grupo *Aspergillus flavus* no solo, provavelmente devido à condição de restrição hídrica que ocorreu no período (Quadro 1, Figura 1).

Essa maior incidência é pré-requisito para a produção de aflatoxina, embora, nem todas as cepas do grupo *Aspergillus flavus* sejam produtoras de aflatoxinas, como constatado no quadro 7. Assim, uma amostra pode estar contaminada e não conter aflatoxinas. Por outro lado, não é desejável a obtenção de amostras contaminadas com tais espécies.

Com a aplicação de calcário, independentemente da época de amostragem, nos pericarpos das vagens, houve aumento da incidência de espécie do grupo *Aspergillus terreus* e diminuição de espécies do grupo *Aspergillus niger* (Quadro 4) e de *Rhizopus* spp. (Quadro 6). Em relação à incidência de fungos nas sementes, independentemente da época de amostragem, com a aplicação de calcário, houve diminuição da incidência de espécies dos grupos *Aspergillus flavus* e *A. niger* (Quadro 5).

Quadro 4. Dados de porcentagem de *Aspergillus* nas vagens em função de quatro diferentes épocas de amostragem (104, 114, 124 e 134 DAS) e da avaliação da presença ou não de calcário na área de cultivo de amendoim cv. Botutatu, no período das águas, em 2001/2002

Épocas de amostragem	Grupo <i>A. flavus</i>	Grupo <i>A. terreus</i>	Grupo <i>A. niger</i>	<i>Aspergillus</i> spp. (Total)
DAS	%			
104	57,6 a	0,0 b	3,0 b	60,6 a
114	58,8 a	0,0 b	10,6 a	69,4 a
124	47,0 ab	10,0 a	8,8 ab	65,6 a
134	40,0 b	0,0 b	0,6 b	40,6 a
Calcário				
Com	49,0 A	3,4 A	4,4 B	57,8 A
Sem	52,7 A	1,6 B	7,1 A	61,3 A
C.V. (%) Parcela	17,81	7,90	11,31	45,91
C.V. (%) Subparcela	19,44	21,63	16,47	26,08

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quadro 5. Dados de porcentagem de *Aspergillus* nas sementes em função de quatro diferentes épocas de amostragem (104, 114, 124 e 134 DAS) e da avaliação da presença ou não de calcário na área de cultivo de amendoim cv. Botutatu, no período das águas, em 2001/2002

Épocas de amostragem	Grupo <i>A. flavus</i>	Grupo <i>A. niger</i>	<i>Aspergillus</i> spp. (Total)
DAS		%	
104	6,6 a	4,5 a	11,1 a
114	6,5 a	2,8 b	9,3 a
124	3,7 b	0,5 b	3,8 b
134	4,8 b	1,3 b	6,1 b
Calcário			
Com	4,8 B	1,6 B	6,4 A
Sem	5,8 A	3,0 A	8,8 A
C.V. (%) Parcela	29,59	14,58	38,99
C.V. (%) Subparcela	25,58	17,50	28,42

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quadro 6. Dados de porcentagem de *Penicillium* e de *Rhizopus* spp. nas vagens e nas sementes em função de quatro diferentes épocas de amostragem (104, 114, 124 e 134 DAS) e da avaliação da presença ou não de calcário na área de cultivo de amendoim cv. Botutatu, no período das águas, em 2001/2002

Épocas de amostragem	Vagens		Sementes	
	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Rhizopus</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Rhizopus</i> spp.
DAS				%
104	51,87 a	14,37 ab	24,21 a	5,15 a
114	34,68 bc	11,25 b	12,81 ab	0,62 b
124	42,50 ab	19,37 ab	12,65 ab	0,62 b
134	22,18 c	30,31 a	6,72 b	2,18 ab
Calcário				
Com	40,62 A	12,65 B	13,75 A	1,09 A
Sem	36,56 A	26,56 A	12,65 A	3,20 A
C.V. (%) Parcela	32,98	10,65	38,28	198,12
C.V. (%) Subparcela	13,24	27,39	11,90	21,12

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Além do efeito favorável da aplicação de calcário para prevenir a contaminação das sementes por espécies do grupo *Aspergillus flavus*, o crescimento de isolados aflatoxinogênicos tendeu a diminuir a partir do 104 DAS (Quadro 7). No entanto, FERNANDEZ et al. (1997), avaliando a contaminação de amendoim, constataram que a calagem, elevando o teor inicial de 0,6 para 1,5 cmol_c dm⁻³, não foi particularmente efetiva na prevenção da infecção por *Aspergillus flavus*; o

crescimento de isolados aflatoxinogênicos, porém, diminuiu ou foi suprimido pela calagem. Para REDING et al. (1993) e CLAVERO et al. (1994), a inibição do crescimento fúngico pode ser devido ao fato de o tegumento ter servido como uma barreira efetiva para retardar a colonização fúngica, pois os amendoins que receberam níveis altos de cálcio tenderam a apresentar tegumento mais espesso e como tal podem oferecer maior resistência física.

Quadro 7. Número de isolados analisados de *Aspergillus* spp., porcentagem de isolados do grupo *Aspergillus flavus* e com potencial aflatoxinogênico em função de quatro diferentes épocas de amostragem (104, 114, 124 e 134 DAS) e da avaliação da presença ou não de calcário na área de cultivo de amendoim cv. Botutatu, no período das águas, em 2001/2002

Tratamentos	Isolados analisados				Grupo <i>Aspergillus flavus</i>				Isolados aflatoxinogênicos			
	104	114	124	134	104	114	124	134	104	114	124	134
	%											
	Com calagem											
Solo	8	4	6	2	75	100	33	50	16	0	0	0
Vagem	4	3	6	2	25	33	100	100	100	0	33	50
Semente	3	3	9	3	66	100	100	66	0	33	66	50
	Sem calagem											
Solo	2	1	10	4	100	100	70	25	0	0	71	100
Vagem	1	7	8	3	100	71	87	66	0	80	57	100
Semente	1	5	9	9	100	40	77	88	0	100	57	50

4. CONCLUSÕES

1. Nas condições deste experimento, a época de amostragem e a calagem não interferiram na população de *Aspergillus* spp. nas amostras de solo e na sua incidência nos pericarpos das vagens.

2. Aos 104 e 114 dias após a semeadura, período com menores teores de água no solo, houve maior número de isolados pertencentes ao grupo *Aspergillus flavus* no solo e maiores incidências desses fungos nas vagens e nas sementes.

3. Nas amostras coletadas nas áreas com calagem, constatou-se maior número de isolados pertencentes ao grupo *Aspergillus terreus* no solo e elevada incidência de tais fungos nas vagens, bem como a menor incidência de espécies do grupo *Aspergillus flavus* nas sementes.

AGRADECIMENTOS

Aos pesquisadores Otniel Freitas e Anna Maria Bittencourt, do CTAA/EMBRAPA, pelo auxílio na avaliação do potencial de produção de aflatoxina pelos isolados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARCA, M.L. Taxonomía e identificación de espécies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Revista Iberoamericana de Micología*, Bilbao, v.17, p.579-584. 2000.

ALMEIDA, D.L.; SANTOS, G.A.; CUNHA, L.H.; FREIRE, J.R.; SOBRINHO, N.M.B.; PEREIRA, N.N.C.; EIRA, P.A.; BLOISE, R.M.; SALEK, R.C. *Manual de Aducação para o Estado do Rio de Janeiro*. Itaguaí: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1988. 179p.

ANGLE, J.S.; DUNN, K.A.; WAGNER, G.H.. Effect of cultural practices on the soil populations of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v.46, n.2, p.301-303, 1982.

BOTHAST, R.J.; FERNELL, 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. *Resposta diferencial de genótipos de amendoim à calagem*. Botucatu, 1990. 102f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

CLAVERO, M.R.; HARRISON, M.A; HUNG, Y. *Aspergillus parasiticus* NRRL 2667 growth and aflatoxin synthesis as affected by calcium content and initial spore load in single peanuts. *Journal of food protection*, Ames, v.57, n.5, p.415-418. 1994.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. *Manual de Métodos de Análise de Solos*. 2. ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 212p.

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. Population levels of *Aspergillus flavus* and the *A niger* group in Virginia peanut soil. *Phytopatology*, Saint Paul, v. 64, n.3, p.322-325, 1974.

- 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*, Jaguariuna, v.18, n.3, p.262-268, 1992.
- KLICH, M.A.; PITT, J.I. A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their teleomorphs. North Ryde, Australia: CSIRO, 1988a. 116p.
- KLICH, M.A.; PITT, J.I. Differentiation of *Aspergillus flavus* from *A. parasiticus* and other closely related species. *Transaction of the British Mycological Society Cambridge*, London, v.91, p.99-108, 1988b.
- KUMEDA, Y.; ASSAO, T. Heteroduplex panel analysis, a novel method for genetic identification of *Aspergillus* Section *Flavi* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 67, n.9, p.4084-4090, 2001.
- MEHAN, V.K.; AMADOU, B.A.; McDONALD, D.; REBARD, J.L.; RAO, R.C.N.; JAYANTHI, S. Field screening of groundnuts for resistance to seed infection by *Aspergillus flavus*. *Oleagineux*, Paris, v.46, n.3, p.109-115, 1991a.
- MEHAN, V.K. MAYEG, C.D.; JAVANTHI, S; McDONALD, D. 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, 1991b.
- PITT, J.L.; HOCKING, A.D. *Fungi and food spoilage*. London: Blackie Academic & Professional, 1997. 175p.
- RAMOS, D.P.; CASTRO, A.F.; CAMARGO, M.N. Levantamento detalhado de solos da área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.8, n.6, p.1-27, 1973.
- REDING, C.L.C.; HARRISON, M.A; KVIEN, C.K. *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin synthesis on florunner peanuts grown in gypsum-supplemented soil. *Journal of food protection*, Ames, v.56, n.7, p.593-594, 1993.
- ROSSETTO, C.A.V.; NAKAGAWA, J.; ROSOLEM, C.A. Efeito da época de amostragem e da calagem no rendimento de sementes comercializáveis de amendoim cv. Botutatu. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.33, n.5, p.665-675, 1998.
- SANDERS, T.H.; COLE, R.J.; BLANKENSHIP, P.D.; HILL, R.A. Relation of environmental stress duration to *Aspergillus flavus* invasion and aflatoxin production in preharvest peanuts. *Peanut Science*, Raleigh, v.12, n.8, p.90-93, 1985.
- 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*. Denmark (Hellerup): Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries, 1992. 133p.
- TAKAHASHI, T.; CHANG, P.K.; MATUSHIMA, K.; YU, J.; ABE, K.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T.E.; KOYAMA, Y. Nonfunctionality of *Aspergillus sojae aflR* in a strain of *Aspergillus parasiticus* with a Disrupted *aflR* gene. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.68, n.8, p.3737-3743, 2002.
- 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.