

# CONTAMINAÇÃO POR *Aspergillus* spp. EM *Arachis hypogaea*

ELSON DE CARVALHO VIEGAS<sup>1</sup>, CLAUDIA ANTONIA VIEIRA ROSSETTO<sup>2</sup>

1. Professor Associado do Departamento de Fitotecnia – IA, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e-mail: viegas@ufrj.br; 2. Professor Associado do Departamento de Fitotecnia – IA, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e-mail: cavrosse@ufrj.br.

## RESUMO

O amendoim é bastante utilizado, tanto na alimentação humana como em rações, na alimentação animal. Infelizmente o amendoim serve, sob determinadas condições, de substrato para o desenvolvimento de fungos do grupo *Aspergillus flavus*, que, por sua vez, sintetizam substâncias tóxicas denominadas aflatoxinas (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>), que têm efeito carcinogênico, teratogênico, mutagênico e imunossupressor. Das espécies de fungos deste grupo, o mais comum no amendoim é o *Aspergillus parasiticus*, já que ele ocorre mais frequentemente no solo, onde se desenvolvem os frutos desta cultura, embora possam ocorrer também contaminações na fase de pós-colheita e neste caso predomina o *A. flavus*. Para o controle do fungo, várias pesquisas já foram conduzidas. No que diz respeito ao manejo da cultura, os melhores resultados foram obtidos quando mantida a irrigação nas épocas secas, especialmente quando a temperatura na geocarposfera situa-se entre 25 e 28°C e, quando a calagem é feita observando-se o teor de cálcio presente do solo e a época do ano. Os métodos de secagem também interferem na população destes fungos. Nos estudos de resistência tem sido observado que alguns genótipos de amendoim são promissores; entretanto precisam de outros estudos. No que diz respeito ao controle biológico, tem sido encontrado resultados com o uso de estirpes de bactérias isoladas da região da geocarposfera. Outro estudo promissor usa extratos de plantas medicinais, precisando, entretanto, verificar melhor a ação destes extratos sobre o desenvolvimento do fungo e a síntese de aflatoxinas.

**Palavras-chave:** amendoim, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, aflatoxina.

## ABSTRACT

### ARACHIS HYPOGAEA CONTAMINATION FOR ASPERGILLUS Spp.

The peanut is used as food for human and animal and under conditions as substratum for the development of fungus of the *Aspergillus flavus* group, that synthecizes toxic substances (aflatoxins B1, B2, G1 and G2), which have carcinogenic, teratogenic, mutagenic and immunosuppressive effects. Of the species of fungus of this group, most common is the *Aspergillus parasiticus*, that occurs more frequently in the soil, where develops the fruits, and too contaminates in the after harvest. For the control of fungus some research already had been realized. The best results had been kept with irrigation in the droughts, especially when the temperature in the soil is 25 and 28°C and when the liming is been realized observing the calcium content in the soil and season of the year. The drying method also affects the population of this fungus. In the resistance studies he has been observed that some genotypes are promising; however need more studies In the biological control area, has been found results with the use of isolated bacteria of the region of fruit development and extracts of medicinal plants, however, it is need verify better the action on the development of fungus and the aflatoxin synthesis.

**Key words:** peanut, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, aflatoxin.

## INTRODUÇÃO

A cultura do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é importante para o Brasil e em especial para o Estado de São Paulo, onde, no ano agrícola de 2004/2005, foi obtida uma produção de 196 t na safra das águas e de 36,9 t na safra da seca (IEA, 2006). A cultura é

propagada por sementes, que podem transportar e, ou, transmitir vários patógenos como *Rhizopus* sp., *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Diplodia natalensis* Pole-Evans, *Rhizoctonia solani* Kuehn, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp., que causam podridão de pré e pós emergência, além de *Cercospora arachidicola* Hori e *Cercosporidium personatum* (Berk. & Cust.) Deighton, que causam manchas foliares

(Moraes, 1980; Moraes & Mariotto, 1985; Lima & Araujo, 1999).

As sementes, quando usadas para alimentação humana e em rações denominam-se grãos, havendo problemas de aflatoxinas pela contaminação por fungos. O homem e os animais por ele criados, ao consumirem doses subletais dessas toxinas por alguns dias, desenvolvem sintomas de toxidez, em que os danos causados ao fígado são os mais significativos (Ciegler, 1975; Hayes, 1978). A história das micotoxinas começa em 1960, quando um surto de mortes inexplicáveis de aves no Reino Unido (especialmente perus) é investigado. Chegou-se à conclusão que o problema estava na ração, que havia sido feita com amendoim importado da África e do Brasil. Esse amendoim estava contaminado com uma substância fluorescente produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*. Da expressão inglesa 'A. flavus toxin' derivou a palavra AFLATOXINA (Lourenço, 2006).

Aflatoxina é um termo coletivo para um grupo de toxinas produzidas por algumas cepas de *A. flavus* e *A. parasiticus*, durante seu crescimento em substrato favorável à sua produção. Todas as formas de aflatoxinas são compostos heterocíclicos altamente oxigenados e têm um núcleo de cumarina fundida com bifurano e contém um anel pentenona ou uma lactona. Hoje se sabe que não existe uma aflatoxina, mas pelo menos 17 compostos tóxicos. As duas principais formas de aflatoxinas, B e G (blue e green), caracterizadas e visualizadas pela cor da sua fluorescência em UVP (ultravioleta próximo), são subclassificadas como B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, de acordo com a cor e sequência da localização no cromatograma de camada delgada. A pequena diferença estrutural entre elas é responsável por altíssima diferença, na toxidez de cada uma, sendo aflatoxina B<sub>1</sub> a mais tóxica e a mais comum de todas. As aflatoxinas estão classificadas entre os mais tóxicos compostos naturais, de ocorrência comum, aos quais o homem e os animais estão expostos (Dhingra & Coelho Netto, 1998; Lourenço, 2006). Em estudos detalhados sobre dose-resposta foi observado que a aflatoxina B<sub>1</sub> é o mais potente agente carcinogênico natural conhecido, tendo sido encontrado resultados mais graves em ratos machos do que em fêmeas. Foi observado também que a aflatoxina G<sub>1</sub> tem potencial da mesma magnitude que a B<sub>1</sub> (Wogan *et al.*, 1967; Butler *et al.*, 1969). Elas causam morte e outros sintomas de toxicidade quando rações ou alimentos contaminados são ingeridos por animais e humanos, respectivamente (Diener *et al.*, 1987). Foi observado que para patinhos de um dia, a dose única letal, por quilo de peso corporal, de aflatoxinas B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub> foi de 0,73 mg e 1,18 mg, respectivamente, e de 1,16 mg e 2,0 a 4,0 mg para ratos, respectivamente. Já as aflatoxinas B<sub>2</sub> e G<sub>2</sub> foram menos potentes em patinhos (1,76 mg e 2,83 mg respectivamente) além de não serem tóxicas para ratos, mesmo na dosagem de 200,0 mg/kg de peso corporal. As formas B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> também são carcinogênicas, mas com menor potência. Todas as

aflatoxinas têm efeito carcinogênico, teratogênico, mutagênico e imunossupressor (Butler *et al.*, 1969; Wogan *et al.*, 1971). Está estabelecido o limite de 20,0 µg/kg de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> para o consumo de amendoim em grão (com casca, descascado, cru ou tostado) e em pasta ou manteiga (BRASIL, 2002).

As duas espécies mais importantes de *Aspergillus*, produtoras de aflatoxinas, são morfológicamente muito relacionadas, tanto que a maioria dos autores não as diferencia. No entanto, o comportamento ecológico e biológico das duas é bem distinto. *A. parasiticus* parece ser bem adaptado ao ambiente terrestre, por isso é mais comum em amendoim e *A. flavus*, por outro lado, é mais adaptado ao ambiente aéreo e é dominante em milho, algodão, arroz e nozes. Enquanto a maioria das cepas de *A. parasiticus* produz todas as quatro formas de aflatoxinas, as de *A. flavus* só produz as aflatoxinas B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> (Dhingra & Coelho Netto, 1998).

#### Colonização do amendoim por *Aspergillus* spp.

No amendoim, o inóculo aéreo tem pouca importância, porque a maior parte da infecção ocorre nos frutos subterrâneos, embora a infecção, via flor, não possa ser subestimada, pois pode estar presente no desenvolvimento do ovário, na extremidade do ginóforo, antes dele ser impelido para o interior do solo. (Diener *et al.*, 1987; Dhingra & Coelho Netto, 1998). Desta forma verifica-se a importância de *A. parasiticus* que, esporulando abundantemente em restos culturais, implica em populações fúngicas mais altas nos fragmentos de matéria orgânica que no solo livre (Dhingra & Coelho Netto, 1998). Na geocarposfera foram detectados 165 ufc/g de solo com restos culturais de centeio e apenas 18 ou menos ufc/g, de solo onde não havia restos da cultura de centeio (Griffin & Garren, 1976).

Segundo Wells & Kreutzer (1972), flores de amendoim inoculadas com uma suspensão de conídios de *A. flavus* foram prontamente colonizadas pelo fungo sem dano aparente para o desenvolvimento dos óvulos. Sob condições favoráveis de campo, o fungo pode colonizar flores de amendoim sem causar sintomas durante o período de florada, permanecendo saudável até a colheita.

A abundante esporulação do fungo nas anteras pode estar associada aos insetos, transportando de flor a flor o inóculo (Griffin & Garren, 1976) e por esta razão também são considerados formadores do inóculo secundário. Além disto, partes das flores de amendoim, que dificultam a polinização cruzada, pois nesta cultura ocorre 98% de autopolinização, dificultam a contaminação do estigma. Contudo alguns insetos podem possibilitar esta contaminação. A temperatura pode influenciar na infecção da flor, sendo que solos com temperatura mais elevada favorecem a germinação dos esporos pela necessidade maior de irrigação, enquanto que solos com temperatura baixa não predisõem a esta infecção (Sanders *et al.*, 1984).

O amendoim é uma cultura agrícola única, cuja flor

é fertilizada no ambiente aéreo e, pelo alongamento do ginóforo, o embrião é empurrado para baixo da superfície do solo. Assim o fruto (geocarpo) desenvolve-se no ambiente subterrâneo, em contato com microrganismos e sujeito a sua invasão. A colonização de sementes de amendoim, no campo, também segue características básicas, similares ao milho. A infecção de sementes pode ocorrer via sistêmica, através da flor, conforme visto anteriormente, e, diretamente, via parede dos frutos. Parece, contudo, que a infecção direta durante o desenvolvimento dos frutos de amendoim por *A. flavus* na fase de pré-colheita, tem sido, geralmente, aceita como o provável caminho para a eventual contaminação dos grãos com aflatoxina, após a penetração da barreira oferecida pelo pericarpo, e por esta razão é considerada a mais importante, em termos práticos. Apesar das altas populações de *A. flavus* encontradas em campos de amendoim e em paredes de geocarpos em desenvolvimento, a infecção de sementes e produção de aflatoxinas é relativamente baixa, a não ser em condições adversas ou quando os frutos são danificados por insetos ou apresentem rachaduras causadas por mudanças rápidas na umidade do solo (Diener *et al.*, 1987; Horn *et al.*, 1994; Dhingra & Coelho Netto, 1998). Estudos mostraram que os frutos não danificados também podem estar colonizados por *A. flavus* e conter aflatoxinas, embora em menor quantidade, desde que se desenvolva em condições ambientais propícias (Mehan *et al.*, 1991).

*A. flavus* é um fungo mesofílico, com ótimo de temperatura para crescimento entre 35 e 38°C, mínimo entre 8 e 15°C e máximo entre 40 e 45°C. Desde que haja presença de inóculo, em quantidade suficiente na época mais suscetível, altas temperaturas e estresse hídrico são os dois fatores primordiais para colonização e formação de aflatoxinas nos grãos em pré-colheita (Dhingra & Coelho Netto, 1998).

A temperatura e a umidade do ar parecem ter papel independente na produção de aflatoxinas em milho, cuja infecção ocorre no ambiente aéreo. No caso do amendoim, os dois fatores agem conjuntamente. Em grãos de amendoim não danificados, nem a seca nem a alta temperatura sozinhos estimulam a colonização de grãos e, a subsequente, acumulação de aflatoxinas (Hill *et al.*, 1983; Blankenship *et al.*, 1984). Em condições de seca, o limite de temperatura na geocarposfera, para formação de aflatoxinas, situa-se entre 25 e 28°C, e uma redução da temperatura de 29,6 para 25,2°C resulta em não formação de aflatoxinas. A colonização de grãos é inversamente proporcional à maturidade dos grãos, sendo maior nos grãos cultivados em temperaturas elevadas sob condição de seca. Embora, em condição de irrigação, os grãos continuem sem o acúmulo de aflatoxinas. No campo, em condição de seca natural, temperatura do solo de 44,6°C, esta colonização tem sido encontrada entre fileiras da cultura do amendoim, sem que haja formação de aflatoxinas (Hill *et al.*, 1983). O limiar para formação de aflatoxinas fica entre 30 e 40

dias de seca antes da colheita, o que confirma dezenas de observações de campo, onde concentrações de aflatoxinas são mais altas nos anos secos. Postula-se que, nas condições de seca, a alta colonização de vagens pode estar relacionada à eliminação de competidores, como *Aspergillus niger*, que compete com sucesso de *A. flavus* em condições de altas temperatura e umidade do solo (Hill *et al.*, 1983; Blankenship *et al.*, 1984). Outra possível influência da umidade reduzida está na diminuição do metabolismo dos grãos, aumentando sua suscetibilidade à infecção e a colonização (Dhingra & Coelho Netto, 1998). O mecanismo natural de produção de fitoalexinas que promove resistência à colonização pelo fungo é quebrado sob estresse hídrico (Diener *et al.*, 1987; Dhingra & Coelho Netto, 1998).

O crescimento de fungos em sementes armazenadas pode causar a morte do embrião, reduzir a germinação devido a deterioração imposta por condições inadequadas de temperatura e umidade relativa do ar durante o período de armazenamento, bem como poder provocar tombamento e podridões (Mazzani & Layrisse, 1992; Bhattacharya & Raha, 2002).

### Manejo pré colheita da cultura

Um dos aspectos mais importantes para se manter a qualidade sanitária de grãos de amendoim é o manejo pré-colheita, uma vez que a sua contaminação sempre foi tratada como um problema de armazenamento, sendo o próprio armazém, a fonte de inóculo (Dhingra & Coelho Netto, 1998). Mais recentemente, passou-se a aceitar que os grãos podem chegar aos armazéns, apresentando-se infectados e/ou infestados com *Aspergillus* spp., pois dependendo das condições climáticas e da cultivar, a colonização pelo fungo e, a subsequente formação de aflatoxinas podem ocorrer no campo, bem antes da maturação (Anderson *et al.*, 1975).

Na cultura do amendoim, o cálcio é um importante nutriente para frutificação, formação e desenvolvimento das sementes, sendo altos os requerimentos nutricionais deste elemento. A absorção é feita pelas raízes, ginóforos e pericarpo do fruto em formação (Cox & Reid, 1964; Cox *et al.*, 1976; Godoy *et al.*, 1982).

O cálcio é um elemento imóvel no floema e depende da corrente transpiratória para o seu movimento no xilema. Dessa forma, os ginóforos necessitam absorver o cálcio diretamente do solo para o perfeito desenvolvimento dos frutos e sementes, uma vez que o cálcio absorvido pelo sistema radicular do amendoim não é translocado nem redistribuído para os frutos (Skellton & Shear, 1971; Wiersum, 1979).

Fernandez *et al.* (1997), avaliando o efeito da aplicação de calcário em áreas de cultivos de amendoim, constataram que os grãos com maior espessura do tegumento, proveniente de plantas que foram cultivadas em áreas submetidas à calagem, podem favorecer a diminuição da incidência de *Aspergillus*

spp. e a biossíntese de aflatoxinas, dependendo do potencial do inóculo. Além disso, quando as plantas são secas à sombra, a produção de toxinas ocorre, independente da calagem; entretanto, quando as plantas são secas no campo ou no campo seguindo-se de secagem artificial, o desenvolvimento de fungos pode ser reduzido com o aumento do conteúdo de cálcio das sementes. Também Pitt et al. (1991) concluíram que o maior conteúdo de cálcio do tegumento da semente é responsável pela redução do crescimento do *A. flavus* em cultivo de época seca. Assim, além da época de colheita, a secagem também tem sido considerada como uma das operações críticas e que determina a viabilidade da semente do amendoim, principalmente da época das águas (Nautiyal & Zala, 1991).

Clavero et al. (1994) constataram que a aplicação de gesso agrícola preveniu a incidência de *Aspergillus* spp. em sementes de amendoim, devido ao fato do tegumento tornar-se mais espesso, conferindo assim maior resistência à colonização fúngica. No entanto, Rossetto et al. (2003a) concluíram que nas condições avaliadas, a calagem não interferiu na população de *A. flavus* no solo e não preveniu sua contaminação nas vagens e nas sementes do amendoim. O atraso na época da colheita proporcionou aumento da contaminação de *A. flavus* nas vagens e aumento na produção de aflatoxinas G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, na época da seca, pois a precipitação pluvial foi reduzindo e houve aumento, não regular, da temperatura. Ainda, Rossetto et al. (2003b) verificaram que, no período das águas, a época de amostragem e a calagem não interferiram na população de *Aspergillus* spp. nas amostras de solo e nos pericarpos das vagens, isto devido ao fato de que nas três primeiras amostragens não choveu, o que favoreceu o desenvolvimento da população do grupo *A. flavus*; porém nas áreas com calagem houve menor número de isolados de *A. flavus* nas sementes. Verificaram ainda que a quarta época de amostragem coincidiu com um período chuvoso e por esta razão a população do fungo foi significativamente menor no solo, nos pericarpos e nas sementes. Ficou também evidenciada, nesta época, a relação entre a redução da população de *A. flavus* e o incremento significativo da população de *A. niger*, confirmando os resultados obtidos por Hill et al. (1983) e Blankenship et al. (1984).

Quando foi analisado a biossíntese de aflatoxina, através da inoculação de conídios de *A. parasiticus*, Reding et al. (1993) verificaram menor produção de aflatoxina em grãos de amendoim provenientes de plantas que se desenvolveram em solo que foi suplementado com gesso, em comparação às sementes provenientes de plantas provenientes do tratamento controle. Estes autores verificaram, ainda, diminuição da biomassa do fungo, a qual correlacionou-se com a diminuição da biossíntese de aflatoxina. Também, Clavero et al. (1994), ao inocularem os grãos de amendoim com conídios de *Aspergillus* spp., verificaram que a produção de toxinas foi maior

naqueles colhidos a partir de plantas que receberam apenas 2,0 t/ha de cálcio na forma de gesso e, que houve redução de 50% na produção de toxina quando a concentração de cálcio foi aumentada para 4,4 t/ha. Já, Pereira (2006), ao inocular sementes de três cultivares de amendoim, oriundas de plantas cultivadas em áreas com e sem calagem, empregando uma suspensão de conídios de *Aspergillus* do grupo *flavus*, concluiu que a elevada contaminação das sementes por este fungo, independente da cultivar e da origem, ocasionou maior porcentagem de plântulas infeccionadas tanto na avaliação realizada após 21 horas da inoculação, como após 75 dias de armazenamento.

Mehan et al. (1991) constataram que o tipo de solo também pode interferir na infecção de grãos por *A. flavus* e na contaminação por aflatoxina, tendo encontrado níveis mais baixos em Vertissolos do que em Alfissolos.

Dorner et al. (1992), infestando solo com uma estirpe de *A. parasiticus* NRRL 13539 não produtora de aflatoxina e avaliando a atividade biocompetidora deste agente durante os anos de 1987, 1988 e 1989 no controle de estirpes produtoras de aflatoxina em amendoim, concluíram que os solos tratados não apresentaram altas populações de *A. flavus* e *A. parasiticus* e que isto foi uma importante consideração ecológica para a utilização deste sistema de biocontrole.

Também, Mickler et al. (1995), utilizando 18 estirpes de bactérias isoladas da região da geocarposfera coletadas há quatro anos e outros dois isolados não oriundos da geocarposfera, testaram, *in vitro*, em casa de vegetação e em ensaio de campo, seu potencial para controle biológico de *A. flavus* e subsequentemente a contaminação por aflatoxina. Sementes limpas somente e outras germinadas com raízes e radículas foram mergulhadas nas suspensões bacterianas e comparadas com a testemunha, sendo obtida significativa redução da colonização pelo fungo, tanto em raízes como em vagens, e baixa concentração de aflatoxina em grãos, sendo que alguns tratamentos não apresentaram a toxina.

Para Nahdi (1996), as áreas cultivadas com amendoim, submetidas à irrigação abundante, apresentaram baixa infecção por *A. flavus* quando comparadas com aquelas submetidas à estresse hídrico.

### Colonização após a colheita

Durante o armazenamento, o crescimento do fungo depende quase que exclusivamente da umidade do substrato, em equilíbrio com a umidade relativa do ar (UR) de 85 a 95%. A temperatura determina a velocidade de crescimento do fungo nos substratos de grãos, nozes e rações, e é considerada ótima entre 30 e 35°C. Secando-se os produtos rapidamente e mantendo-os a baixa umidade (atividade da água igual a 0,75) previne-se a formação de aflatoxinas, que são particularmente importantes em milho, amendoim e algodão. Em produtos com atividade da água igual a 0,85, em

armazéns, pode ocorrer a contaminação com aflatoxinas em trigo, cevada, soja, feijão e outros (Dhingra & Coelho Netto, 1998).

Schindler et al. (1967) verificaram que a temperatura que freqüentemente é recomendada para a secagem artificial do amendoim favorece o desenvolvimento de *A. flavus*. Porém esta temperatura pode não coincidir com aquela que é favorável para produção de aflatoxina. Desta forma os autores concluíram que a produção de aflatoxina não está relacionada com o crescimento de *A. flavus*.

Quanto ao armazenamento, Rossetto et al. (2005) constataram que os grãos de amendoim armazenados por 12 e 18 meses estavam contaminados por *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp. No entanto, os grãos de amendoim provenientes de colheita antecipada, apresentaram maior contaminação por fungos do grupo *Aspergillus flavus*, sendo menor a proporção destes com potencial toxígeno.

A contaminação dos grãos com aflatoxinas na pré-colheita parece ser significativa nos Estados Unidos, principalmente em amendoim, milho e sementes de algodão, embora a contaminação possa ocorrer em qualquer cultura que não tenha sido seca adequadamente após a colheita (Diener et al., 1987). A poeira durante a colheita, trilha, ensacamento, limpeza, armazenamento e processamento de grãos contaminados também pode contaminar o ser humano.

Bruno et al. (2000), estudando a microflora de sementes de amendoim da cultivar BR 1 durante doze meses de armazenamento, verificaram maior incidência dos fungos *A. flavus*, *A. niger* e *Aspergillus* spp., em especial no tratamento em que as sementes foram armazenadas sem fungicida.

Lima & Araújo (1999), após a inoculação de sementes de amendoim da cultivar BR 1 em suspensão de esporos do grupo *A. flavus* por cinco minutos, constataram que a presença destes fungos causou tombamento pré-emergência, provocando podridão em 70 % das sementes testadas. Além disso, este patógeno causou severa podridão nas sementes aos oito dias após a inoculação.

Pereira (2006), após inocular sementes de amendoim das cultivares IAC 22, BR 1 e Caiapó, com suspensões de conídios de fungos do grupo *A. flavus*, concluiu que a cultivar IAC 22, proveniente de área sem calagem, apresentou menor incidência deste fungo.

Na avaliação inicial de sanidade de sementes de amendoim da cultivar Tatu, Usberti & Amaral (1999) verificaram a ocorrência de *A. niger*, *A. flavus*, *Penicillium* spp. e *Rhizopus* spp. No entanto, quando as mesmas foram tratadas com fungicida e armazenadas por doze meses, foi constatado que houve redução da incidência destes fungos nas sementes.

Calori-Domingues et al. (2005) verificaram que após a inoculação das sementes de amendoim em suspensão de esporos de isolado do grupo *A. flavus*, os genótipos U475 e VRR245 apresentaram os menores níveis de contaminação e, os genótipos Tatu Runner e Caiapó,

os maiores níveis. A resistência do genótipo 2117 previamente observada em condições de laboratório não foi confirmada neste trabalho.

Os resultados dos estudos de resistência têm mostrado a necessidade de conhecer os fatores específicos associados com a resistência do tegumento em amendoim, que incluem baixa permeabilidade, aumento do acúmulo de cera na superfície, uniformidade da camada cerosa, pequeno hilo, presença de taninos e componentes inibitórios e diferenças na composição de aminoácidos (Vasudeva et al., 1989). Logo, o conhecimento do comportamento das sementes de diferentes cultivares é de grande importância para a cultura, visando minimizar a contaminação fúngica (Prado et al., 1999).

Para Mazzani & Layrisse (1992) ensaios desenvolvidos com oito genótipos de amendoim não apresentaram resultados significativos quanto à resistência a *A. flavus* com relação à variação ambiental (irrigado, estresse hídrico e em condições de chuva). Já, Prado et al. (1999), avaliando a resistência de quatro genótipos de amendoim (Tatu, VRR-247, 2117 e 2155) quanto a produção de aflatoxina B<sub>1</sub>, após inoculação com *A. flavus*, observaram comportamentos diferentes entre eles, sendo que o genótipo 2117 apresentou menores níveis de contaminação, sugerindo maior resistência à infecção pelo fungo e ou à produção de aflatoxina. Os autores concluíram ainda, que além da necessidade do conhecimento dos mecanismos indutores da resistência, é necessário conhecer melhor as variações de interação genótipos x estirpes do patógeno, do seu potencial toxigênico, do processo de inoculação e das condições de cultivo e colheita, assim como também comentado por Prado et al. (1999).

### Controle da colonização do fungo e de aflatoxina

Santurio et al. (1994), objetivando encontrar um material que misturado à ração animal à base de amendoim, pudesse eliminar a aflatoxina, avaliaram, *in vitro*, a capacidade de adsorção de bentonitas e aluminossilicatos à aflatoxina (utilizando aflatoxina B<sub>1</sub> com pureza de 99%-Sigma Chemical Company) e obtiveram resultados positivos acima de 72% com aluminossilicato de sódio e cálcio hidratado, bentonita sódica e bentonita sódica natural. Recentemente, Lopes et al. (2006) utilizaram a bentonita sódica em mistura com a ração de frangos de corte contaminada artificialmente com aflatoxina e obtiveram melhor desempenho das aves com 0,3 % de bentonita.

Já, Patkar et al. (1995), tratando grãos de arroz, sorgo e amendoim com ácido propiônico em diferentes concentrações, concluíram que esta substância pode ser alternativa para controlar fungos de armazenamento. Entretanto, quando aplicado em material a ser utilizado como semente, provoca queda de germinação com o prolongamento do período de estocagem.

Prado et al. (1995a), trabalhando com sementes de amendoim da cultivar Tatu vermelho tratadas com sais

de alumínio, ferro, zinco e níquel em diferentes concentrações, inoculadas com *A. flavus* NRRL 6513, incubadas por sete dias e analisadas quanto a produção de aflatoxina B<sub>1</sub>, observaram que alumínio, ferro e zinco inibiram a produção de aflatoxina B<sub>1</sub> em todas as concentrações e que o níquel estimulou a produção desta toxina quando foi usada a concentração de 4 mg/g e inibiu quando usou a concentração de 1,0 e de 2,0 mg/g. Os autores sugeriram que a utilização de solos ou de genótipos com elevados teores de alumínio, ferro e zinco, pode contribuir para menor contaminação das sementes por aflatoxinas.

Ainda, Prado et al. (2005b) verificaram o efeito da irradiação gama (60Co) em doses que variaram de 0 a 30 kGy, na destruição de diferentes níveis de aflatoxina B1 em amostras de amendoim, cultivar Tatu Vermelho, artificialmente e naturalmente contaminadas, procedentes de São Paulo, safras 2001/2002 e 2002/2003 e concluíram que a irradiação gama (60 Co) não é capaz de destruir totalmente a aflatoxina B1 em condições naturais, mesmo em doses de até 30 kGy.(AU).

#### Uso de extratos de plantas medicinais

Para o controle de *A. flavus* em sementes destinadas à alimentação (grãos), a eficácia do uso de extratos de cebola (*Allium cepa* L.) e de alho (*Allium sativum* L.) além de eugenol foi testada por Bilgrami et al. (1992) em grãos de milho contra a produção de aflatoxina por *A. flavus*. Estes autores verificaram em meio de cultura a redução do crescimento micelial em até 61,94% com o extrato de alho. Entretanto, contataram a redução da produção de aflatoxina em até 60,44%, com o extrato de cebola devido, provavelmente a presença de compostos fenólicos. Além disso, o eugenol foi mais adequado para a inibição da produção de aflatoxina (60,35%) em grãos de milho em relação aos óleos de alho e de cebola.

Para Paster et al. (1995), os grãos de trigo tratados por 24 horas com os óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare* L.) e de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) apresentaram inibição no crescimento de *Aspergillus* spp. com 2,0 mL/L e 4,0 mL/L, respectivamente. Entretanto, ao ser mantida a exposição dos grãos aos óleos por mais de 24 horas, houve redução na capacidade germinativa proporcional ao tempo de exposição, o que inviabiliza sua utilização em sementes nestas condições.

O emprego de óleos essenciais de alho (*Allium sativum* L.) e de canela (*Cinnamomum zeilanicum* Nees por Viegas (2005a), *in vitro*, apresentou maior inibição do desenvolvimento miceliano de *A. flavus*, entretanto este efeito variou conforme o isolado testado.

Para o controle de *A. flavus* em sementes, destinadas ao cultivo foi conseguido por Bansal & Sobti (1990) resultado promissor com o uso de extrato de folha de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle, *in vitro*, de *A. niger* e *A. flavus* em sementes de amendoim, não diferindo dos resultados obtidos com thiran e

mancozeb, além de favorecerem a germinação e a sanidade de plântulas.

Foi verificado por Ferracini et al. (1990) que extratos de ambrósia (*Chenopodium ambrosioides* L.), *Cimaba cedron* P., aruba (*Simarouba amara* Aubl.), quássia (*Quassia* spp.), *Pterocaulon balansae* e cinamomo (*Melia azedarach* L.) inibiram, *in vitro*, os fungos *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, e que a incorporação de folhas de *C. ambrosioides* no solo promoveu o controle do tombamento de plântulas de feijoeiro causado por *R. solani*.

Já, Azaizeh et al. (1990) obtiveram extratos metanólicos de tegumentos e cotilédones de sementes de vinte e três genótipos de amendoim e após filtragem e secagem, diluíram o tanino existente no resíduo com água destilada em diferentes concentrações e adicionaram ao meio YES [meio de cultura composto de extrato de levedura (20 g); MgSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0,5 g); sacarose (150 g); agar (20 g); água destilada (1000 mL) conforme Singh et al., 1992]. Posteriormente, foi feita a infestação de *A. parasiticus* e verificaram o efeito deste tratamento sobre o crescimento micelial do fungo e a produção de aflatoxinas. Os autores concluíram que alguns destes extratos inibiram significativamente o crescimento do fungo e reduziram os níveis de aflatoxinas produzidas.

Também, Mishra & Dubey (1994) avaliaram a atividade fungitóxica de uma série de óleos essenciais, extraídos por meio de hidrodestilação de folhas de capim limão [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.], de erva de São João (*Ageratum conyzoides* L.), de limão Tahiti [*Citrus aurantiifolia* (Christm.) Swingle], de junípero comum (*Juniperus communis* L.), de cânhamo-agrimônia (*Eupatorium cannabinum* L.), de alfavacão [*Hyptis suaveolens* (L.) Poit], de hortelã comum (*Mentha viridis* L.), de pinheiro (*Pinus* spp.) e de alpinia (*Alpinia carinata* Val), de talos de insenso frances (*Boswellia serrata* Roxb.), de cascas de tangerina (*Citrus reticulata* Blanco) e de laranja (*Citrus sinensis* Osbeck), de rizoma de açafrão (*Curcuma longa* L.), e de raiz de vetiver [*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash], sobre *Aspergillus flavus*. Para os autores, *C. citratus* apresentou atividade positiva à concentração máxima de inibição (CMI) de 3.000 ppm (isto quer dizer que esta foi a menor concentração capaz de impedir a germinação e o desenvolvimento do fungo). A técnica utilizada foi a de discos de micélio, em meio BDA. Em testes de fitotoxicidade do citral, substância presente em maior concentração no óleo essencial de *C. citratus*, não foi observado efeito sobre a germinação de sementes e o crescimento das plântulas de trigo e arroz. Estes autores testaram ainda a atividade fungitóxica do citral sobre várias espécies de *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Aspergillus* e *Botrytis*, nas concentrações de 500ppm (hipotóxica), de 1000ppm (tóxica) e de 1500ppm (hipertóxica) e concluíram que houve total inibição de crescimento fúngico somente com a concentração hipertóxica. Entretanto para *A.*

*parasiticus*, a concentração hipotóxica promoveu total inibição do fungo.

Foi verificado por Adegoke & Odesola (1996) que sementes de feijão e de milho tratadas com óleo essencial ou com o pó do capim limão e armazenadas por 10 dias, não apresentaram deterioração física, alteração no odor e na coloração, como também apresentaram inibição no crescimento de *A. flavus*, enquanto o mesmo não foi observado na amostra controle (não tratadas).

Montes-Belmont & Carvajal (1998), estudando os óleos essenciais obtidos de 11 plantas para o controle de *A. flavus* em milho, verificaram a inibição total de desenvolvimento do fungo por canela (*Cinnamomum zeilanicum* Breyn.), hortelã (*Mentha piperita* L.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.), *Teloxys ambrosioides*, cravo da Índia [*Syzygium aromaticum* (L.) Norril.] e tomilho (*Thymus vulgaris* L.), além de não haver efeito fitotóxico na germinação e no desenvolvimento das plântulas.

Também, Viegas et al. (2005a), avaliando *in vitro* a toxicidade de óleos essenciais de oito espécies de plantas medicinais sobre *A. flavus*, isolado de sementes de amendoim, concluíram que a maior inibição do desenvolvimento micelial do fungo, foi obtida com o emprego dos óleos essenciais de bulbilho de alho e de casca de canela, e que o efeito inibitório variou com o isolado testado.

Ainda, Viegas et al. (2005b), avaliando o efeito de produtos sintéticos e de origem vegetal na qualidade fisiológica de sementes de amendoim, da cultivar Tatu, armazenadas por 12 meses, concluíram que o emprego de óleo de bulbilho de alho e de óleo de casca de canela reduz a germinação das sementes de amendoim, provavelmente devido ao solvente utilizado, e que o fungicida captan e os produtos a base de pó de alho e de casca de canela favoreceram a germinação e o vigor das sementes, ao promoverem a redução de plântulas deterioradas.

## CONCLUSÃO

Embora, desde 1960 são conhecidos os efeitos danosos das aflatoxinas, ainda não foram feitos investimentos suficientes na preparação de profissionais das áreas de saúde e de produção agrícola, que venham a contribuir para a redução das infestações de grãos por fungos do grupo *A. flavus*, responsável pela biossíntese dessas toxinas e as consequências de sua ingestão.

Nas culturas que produzem grãos na parte aérea das plantas, as pesquisas já demonstraram que a busca de material resistente associado ao controle da irrigação, provavelmente será o melhor caminho. Entretanto, no caso do amendoim, os estudos mostram que a calagem pode controlar a colonização do fungo dependendo do teor de cálcio no solo, da época do

ano (águas e seca) e da cultivar (espessura do tegumento).

A linha de pesquisa sobre o uso de extratos de plantas para controle da produção de aflatoxinas em grãos, especialmente, amendoim, é extremamente promissora, precisando ser verificada sua ação sobre o desenvolvimento do fungo, se interfere na biossíntese das toxinas e se é possível a neutralização química das mesmas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEGOKE, G.O. & ODESOLA, B.A. Storage of maize and cowpea and inhibition of microbial agents of biodeterioration using the powder and essential oil of lemon grass (*Cymbopogon citratus*). *International Biodeterioration and Biodegradation*, Essex, v. 37, n.1/2, p. 81-84, 1996.
- ANDERSON, H.W.; NEHRING, E.W.; WICHSER, W.R. Aflatoxin contamination of corn in the field. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 23, n. 4, p. 775-782, 1975.
- AZAIZEH, H.A.; PETTIT, R.E.; SARR, B.A.; PHILLIPS, T.D. Effect of peanut tannin extracts on growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production. *Mycopathologia*, Dordrecht, v. 110, p. 125-132, 1990.
- BANSAL, R.K. & SOBTI, A.K. An economic remedy for the control of two species of *Aspergillus* on groundnut. *Indian Phytopathology*, Nova Delhi, v. 43, p. 451-452, 1990.
- BHATTACHARYA, K. & RAHA, S. Deteriorative changes of maize, groundnut and soybean seed by fungi in storage. *Mycopathologia*, Holanda, v. 155, n. 2, p. 13e5-141, 2002.
- BILGRAMI, K.S.; SINHA, K.K. & SINHA, A.K. Inhibition of aflatoxin production & growth of *Aspergillus flavus* by eugenol & onion & garlic extracts. *Indian Journal Medical Research*, Nova Delhi, v. 96, p. 171-175, 1992.
- BLANKENSHIP, P.D.; COLE, R.J.; SANDERS, T.H.; HILL, R.A. Effect of geocarposphere temperature on pre-harvest colonization of drought-stressed peanut by *Aspergillus flavus* and subsequent aflatoxin contamination. *Mycopathologia*, Dordrecht, v. 85, p. 69-74, 1984.
- BRASIL – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC, n. 274, de 15/10/2002. Aprova o Regulamento Técnico Sobre Limites Máximos de

- Aflatoxinas Admissíveis no Leite, no Amendoim e no Milho. *DOU, Poder Executivo*, Brasília: 16/10/2002.
- BRUNO, R. L. A.; AZEREDO, G. A.; QUEIROGA, V. P.; ARAUJO, E.; DINIZ, E. Qualidade fisiológica e micoflora de sementes de amendoim C.V. BR 1 durante o armazenamento. *Revista de Oleaginosas e Fibras*, Campina Grande, v. 4, n. 3, p. 141-152, 2000.
- BUTLER, W.H.; GREENBLATT, M.; LIJINSKY, W. Carcinogenesis in rats by aflatoxins B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub> and B<sub>2</sub>. *Cancer Research*, Baltimore, v. 29, p. 2206-2211, 1969.
- CALORI-DOMINGUES, M.A.; BÍSCOLA, V.; GLORIA, E.M.; GODOY, I.J.; CORRENTE, J.E. Resistência de genótipos de amendoim à produção de aflatoxina B<sub>1</sub> – condições de laboratório. In: ENCONTRO SOBRE A CULTURA DO AMENDOIM. (2.: 2005: Jaboticabal)  
*Anais...* Jaboticabal: UNESP, 2005. CD-ROOM.
- CIEGLER, A. Mycotoxins: occurrence, chemistry, biological activity. *Lloydia*, Cincinnati, v. 38, n. 1, p. 21-35, 1975.
- CLAVERO, M.R.S.; HARRISON, M.A.; HUNG, Y-C. *Aspergillus parasiticus* NRRL 2667 growth and aflatoxin synthesis as affected by calcium content and initial spore load in single peanuts. *Journal of Food Protection*, v. 57, n. 5, p. 415-418, 1994.
- COX, F.R. & REID, P.H. Calcium boron nutrition as related to concealed damage in peanut. *Agronomy Journal*, Madison, v. 56, n. 1, p. 173-176, 1964.
- COX, F.R.; SULLIVAN, G.A.; MARTIN, C.K. Effect of calcium and irrigation treatments on peanut yield, grade and seed quality. *Peanut Science*, Raleigh, v. 3, n.1, p. 81-85, 1976.
- DHINGRA, O.D. & COELHO NETTO, R.A. Micotoxinas em grãos. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v. 6, p. 49-101, 1998.
- DIENER, U.L.; COLE, R.J.; SANDERS, T.H.; PAYNE, G.A.; LEE, L.S.; KLICH, M.A. Epidemiology of aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 25, p. 249-270, 1987.
- 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.M.; 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.
- FERRACINI, V.L.; MELO, I.S.; FRIGHETO, R.T.S. Influência de *Chenopodium ambrosioides* L. no crescimento micelial e germinação de escleródios de *Sclerotium rolfsii*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 15, n. 2, p. 176, 1990.
- GODOY, O.P.; MARCOS FILHO, J.; CÂMARA, G. M. S. Tecnologia da produção. In: CÂMARA, G. M. S.; GODOY, O.P.; MARCOS FILHO, J.; FONSECA, H. *Amendoim: produção, pré-processamento e transformação agroindustrial*. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, 1982. 44p. (Série Extensão Agroindustrial, 4).
- 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, jul. 1976.
- HAYES, A.W. Biological activities of mycotoxins. *Mycopathologia*, Dordrecht, v. 65, p. 29-41, 1978.
- HILL, R.A.; BLANKENSHIP, P.D.; COLE, R.J.; SANDERS, T.H. Effects of soil moisture and temperature on preharvest invasion of peanuts by the *Aspergillus flavus* Group and subsequent aflatoxina development. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 45, n. 2, p. 628-633, 1983.
- HORN, B.W.; DORNER, J.W.; GREENE, R.L.; BLANKENSHIP, P.D.; COLE, R.J. Effect of *Aspergillus parasiticus* soil inoculum on invasion of peanut seeds. *Mycopathologia*, Dordrecht, v. 125, n. 3, p. 179-191, 1994.
- INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA, São Paulo, Previsões e Estimativas das Safras, 2005/2006. *Informações Econômicas*, São Paulo, v. 36, n. 8, ago 2006.
- LIMA, E.F. & ARAÚJO, A.E. Fungos causadores de tombamento, transportados e transmitidos através da semente do amendoim. *Revista de Oleaginosas e Fibras*, Campina Grande, v.3, n. 2, p. 71-76, 1999.
- LOPES, J.M.; RUTZ, F.; MALLMANN, C.A.; TOLEDO, G.S.P. de. Adição de bentonita sódica como adsorvente de aflatoxinas em rações de frangos de



- corte. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1594-1599, 2006.
- LOURENÇO, Alexandre (2006) *Microbiologia*. <http://www.microbiologia.vet.br> - Acessado em 17/10/2006.
- MAZZANI, C. & LAYRISSE, A. Resistência de campo de genótipos de maní (*Arachis hypogaea* L.) a la infección de sus semillas por *Aspergillus* spp. *Phytopathologia Mediterranea*, Bologna, v. 31, p. 96-102, 1992.
- MEHAN, V.K.; MAYEE, C.D.; JAYANTHI, 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, 1991.
- MICKLER, C.J.; BOWEN, K.L.; KLOPPER, J.W. Evaluation of selected geocarposphere bacteria for biological control of *Aspergillus flavus* in peanut. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 175, p. 291-299, 1995.
- MISHRA, D. & DUBEY, N.K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 60, n. 4, p. 1101-1105, 1994.
- MONTES-BELMONT, R. & CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *Journal of Food Protection*, Ames, v.61, n. 5, p. 616-619, 1998.
- MORAES, S.A. de. Podridão do colo de plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) causada por *Aspergillus niger* VAN TIEGH. *Ecossistema*, São Paulo, v.5, n.1, p. 115-123, ago. 1980.
- MORAES, S.A. de & MARIOTTO, P.R. Diagnóstico da patologia de sementes de amendoim no Brasil. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 7, n.1, p. 41-43, 1985.
- NAHDI, S. Drought stress and preharvest seed invasion of selected groundnut genotypes by *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination. *Indian Phytopathology*, Nova Delhi, v. 49, n. 1, p. 52-56, 1996.
- NAUTIYAL, P.C. & ZALA, P.V. Effect of drying methods on seed viability and seedling vigour in Spanish groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Seed Science and Technology*, Zurich, v. 19, p. 451-459, 1991.
- PASTER, N.; MENASHEROV, M.; RAVID, U.; JUVEN, B. Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. *Journal of Food Protection*, Ames, v. 58, n. 1, p. 81-85, 1995.
- PEREIRA, E.L. Qualidade sanitária de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) produzidas na Baixada Fluminense, 2006. 170p. Tese (Doutorado em Fitotecnia. Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- PITT, J.I.; DYER, S.K.; McCAMMON, S. Systemic invasion of developing peanut plants by *Aspergillus flavus*. *Letters in Applied Microbiology*, Oxon, v.13, p. 16-20, 1991.
- PRADO, G.; ALVAREZ LEITE, E.M.; MARTINS VIEIRA, M.B.; DE OLIVEIRA, M.S. Influência de metais na produção de aflatoxina B<sub>1</sub> em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 15, n. 3, p. 294-297, 1995a.
- PRADO, G.; CARVALHO, E.P.; OLIVEIRA, M.S.; GAZZINELLI, J.E.C.M.; MORAES, V.D.; CORRÊA, R.F.; CARDOSO, V.N.; SOARES, T.V. Influência da irradiação gama (60Co) na destruição da aflatoxina B<sub>1</sub> em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 64, n.2, p. 186-192, jul.-dez. 2005b.
- PRADO, G.; OLIVEIRA, M.S.; GAZZINELLI-MADEIRA, J.E.C.; GODOY, I.J.; CORRÊA, B.; JUNQUEIRA, R.G.; FERREIRA, S.O. Resistência de quatro genótipos de amendoim à produção de aflatoxina B<sub>1</sub> após inoculação com *Aspergillus flavus* Link. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 19, n. 1, 9 p., 1999.
- 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.; VIEGAS, E.C.; LIMA, T. de M. Contaminação fúngica do amendoim em função das doses de calcário e épocas de amostragem. *Bragantia*, Campinas, v. 62, n. 3, p. 437-445, 2003a.
- ROSSETTO, C.A.V.; LIMA, T.M.; VIEGAS, E.C.; SILVA, O.F.; BITTENCOURT, A.N. Efeito da calagem, da colheita e da secagem na qualidade sanitária de amendoim na seca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 38, n. 5, p. 567-573, 2003b.
- ROSSETTO, C.A.V.; SILVA, D.F.; ARAÚJO, A.E.S. Influência da calagem, da época de colheita e de secagem na incidência e aflatoxinas em grãos de

- amendoim armazenados. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.35, n.2, p. 309- 315, 2005.
- SANDERS, T.H.; BLANKENSHIP, P.D.; COLE, R.J.; HILL, R.A. Effect of soil temperature and drought on peanut pod and stem temperatures relative to *Aspergillus flavus* invasion and aflatoxin contamination. *Mycopathologia*, Dordrecht, v. 86, p. 51-54, 1984.
- SANTURIO, J.M.; MALLMANN, C.A.; BALDISSERA, M.A.; EWALD, C.; HEER, A. Níveis de adsorção de aflatoxina B<sub>1</sub> in vitro de aluminossilicatos e bentonitas comercializados no Brasil. In: Congresso Latino-Americano de Micotoxicologia, 1, 1994, Rio de Janeiro. *Anais*. Rio de Janeiro: Imprensa Universitária-UFRRJ, 1994. v. 1. p. 10-12.
- SCHINDLER, A.F.; PALMER, J.G.; EISENBERG, W.V. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* as related to various temperatures. *Applied Microbiology*, Washington, v. 15, n. 5, p. 1006-1009, 1967.
- 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, 233 p.
- SKELTON, B.J. & SHEAR, G.M. Calcium translocation in the peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Agronomy Journal*, Madison, v. 63, n. 3, p. 409-412, 1971.
- USBERTI, R. & AMARAL, H.M. Fungicide dressing timing, seed size, seed origin and fungal incidence effects on groundnut (*Arachis hypogaea* L.) storability. *Seed Science and Technology*, Zurich, v. 24, n. 2, p. 699-706, 1999.
- VASUDEVA, M.J.R.; NIGAM, S.N.; MEHAN, V.K.; McDONALD, D. *Aspergillus flavus* resistance breeding in groundnut. In: McDONALD, D. & MEHAN, V.K. (Eds). Patancheru: *International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics*, 1989. p. 345-354.
- VIEGAS, E.C.; SOARES, A.; CARMO, M.G.F.; ROSSETTO, C.A.V. Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 23, n. 4., p. 915-919, 2005a.
- VIEGAS, E.C.; NASCIMENTO, F.G.; MEYRELLES, B.G.; ROSSETTO, C.A.V. Qualidade fisiológica de sementes armazenadas de amendoim influenciada pelos produtos sintéticos e de origem vegetal. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v.7, n. 3, p. 79-85, 2005b.
- WELLS, T.R. & KREUTZER, W.A. Aerial invasion of peanut flower tissues by *Aspergillus flavus* under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, Saint Paul, v. 62, p. 797, 1972.
- WIERSUM, L.K. Water transport in xylem an related to calcium uptake by groundnuts (*Arachis hypogaea* L.). *Plant and Soil*, The Hague, v. 52, n. 3, p. 160-167, 1977.
- WOGAN, G.N.; EDWARDS, G.S.; NEWBERNE, P.M. Dose-response characteristics of aflatoxin B<sub>1</sub> carcinogenesis in the rat. *Cancer Research*, Baltimore, v. 27, Part. I, p. 2370-2376, 1967.
- WOGAN, G.N.; EDWARDS, G.S.; NEWBERNE, P.M. Structure-activity relationships in toxicity and carcinogenicity of aflatoxins and analogs. *Cancer Research*, Baltimore, v. 31, p. 1936-1942, 1971.



This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.  
This page will not be added after purchasing Win2PDF.