



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS  
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA AGRÍCOLA**



## **DISSERTAÇÃO**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PROCESSAMENTO E  
ARMAZENAMENTO DE PRODUTOS AGRÍCOLAS**

**INCIDÊNCIA DE FUNGOS E PRODUÇÃO DE AFLATOXINA EM SEMENTES DE  
AMENDOIM CRIOCONSERVADAS E TRATADAS COM EXTRATO DE SUCUPIRA  
ARMAZENADAS EM AMBIENTE NATURAL**

**DYALLA RIBEIRO DE ARAUJO**

**Campina Grande - Paraíba  
FEVEREIRO - 2009**

**INCIDÊNCIA DE FUNGOS E PRODUÇÃO DE AFLATOXINA EM SEMENTES DE  
AMENDOIM CRIOCONSERVADAS E TRATADAS COM EXTRATO DE SUCUPIRA  
ARMAZENADAS EM AMBIENTE NATURAL**

**DYALLA RIBEIRO DE ARAUJO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola.

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO:** Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas

**ORIENTADORES:** Prof. Dr. Francisco de Assis Cardoso Almeida  
Profª. Drª. Josivanda Palmeira Gomes

**Campina Grande - Paraíba  
FEVEREIRO – 2009**



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFPG

A663i

2009 Araujo, Dyalla Ribeiro de.

Incidência de fungos e produção de afloxina em sementes de amendoim crioconservadas e tratadas com extrato de sucupira armazenadas em ambiente natural / Dyalla Ribeiro de Araujo. – Campina Grande, 2009. 137 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais.

Referências.

Orientadores: Prof. Dr. Francisco de Assis Cardoso Almeida, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Josivanda Palmeira Gomes.

1. Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas. 2. *Arachis hypogaea*. 3. *Aspergillus flavus*. 4. Micotoxinas. I. Título.

CDU – 631.563<sup>Amendim</sup>9(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS  
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA AGRÍCOLA



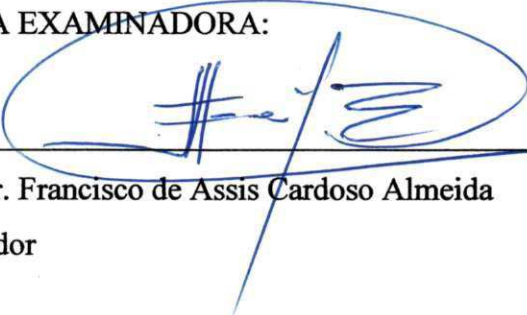
**PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA PROPOSTA DE DISSERTAÇÃO  
DA MESTRANDA**

**DYALLA RIBEIRO DE ARAUJO**


**INCIDÊNCIA DE FUNGOS E PRODUÇÃO DE AFLATOXINA EM SEMENTES DE  
AMENDOIM CRIOCONSERVADAS E TRATADAS COM EXTRATO DE SUCUPIRA  
ARMAZENADAS EM AMBIENTE NATURAL**

BANCA EXAMINADORA:


PARECER

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Francisco de Assis Cardoso Almeida  
Orientador

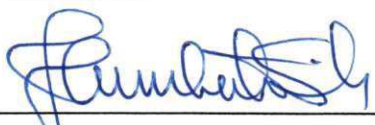
  
\_\_\_\_\_  
Aprovada

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Dra. Josivanda Palmeira Gomes  
Orientadora

  
\_\_\_\_\_  
Aprovada

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Eliseu Marlônio Pereira de Lucena  
Examinador

  
\_\_\_\_\_  
APROVADA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Humberto Silva  
Examinador

  
\_\_\_\_\_  
APROVADA

FEVEREIRO – 2009

*A meus pais, Carlos Alberto e Maria Elenildes, graças ao amor incondicional, aos ensinamentos diários e ao apoio total, que me fizeram mais forte e capaz de superar os obstáculos e, sobretudo me levaram ao engrandecimento humano e profissional. Nada mais justo e confortável que dedicar a vocês mais esta conquista.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela misericórdia e bênçãos derramadas sobre mim durante todos os dias de minha vida, por me fazerem forte e perseverante.

Ao Professor e Orientador Dr. Francisco de Assis Cardoso Almeida, por toda atenção, paciência, credibilidade e ensinamentos indispensáveis para a concretização deste trabalho.

À Professora e Orientadora Dr<sup>a</sup>. Josivanda Palmeira Gomes por compartilhar seus conhecimentos acadêmicos e humanos, e me proporcionar apoio, atenção e AMIZADE mais que convenientes durante o mestrado.

Aos meus padrinhos Eliomar e Aldenir, pela dedicação, amor e incentivo que me tornaram mais confiante durante esta caminhada.

A todos da minha família, irmãos (Dávily e Nyagra), Tios e Primos.

A todos os Professores do Programa de Pós Graduação em Engenharia Agrícola.

Ao CNPq, por conceder a bolsa de estudo, grande apoio e incentivo para a realização da minha pesquisa.

À UFCG por me conceder todas as condições fundamentais para assim tornar real mais uma formação.

À Embrapa Algodão, pela oportunidade e disposição para a realização dos experimentos, em nome da Dr<sup>a</sup>. Rosa Mendes Freire, pela colaboração e todo o seu empenho em prol da realização das análises de aflatoxinas.

À Faculdade de Tecnologia – CENTEC, pela oportunidade de formação acadêmica e profissional.

A minha AMIGA Izabel, pela lealdade, disponibilidade e afeto, que me fizeram amadurecer e enriquecer o conceito de amizade. Jamais esquecerei a agradável

companhia, o ombro amigo e confortante. Talvez sem você tudo teria sido mais difícil....Obrigada por tudo!

Às amigas de todas as horas, Ana Lúcia e Leila, pela amizade e companhia agradável nas horas difíceis.

À amiga Jeane, por toda amizade, carinho, preocupação que sempre teve comigo. E por sempre amenizar a saudade que senti da minha família.

Aos amigos Niédja, Thiago, Renan, Simone e Edjane, por todo o auxílio, de valor produtivo na realização dos experimentos.

Ao amigo e eterno professor Antenor Silva Júnior, por toda a confiança em mim sempre depositada.

Aos amigos Jonas e Daniela, pelo incentivo, ajuda e ensinamentos compartilhados e amizade.

Aos colegas de sala do mestrado, por todas as alegrias que passamos e obstáculos superados.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia Agrícola: D. Rivanilda, Silas, Luciene e Júlio, por todo o auxílio e ajuda prestados.

À funcionária do laboratório de Fitopatologia da UEPB, Francisca, pelos serviços prestados.

Às minhas companheiras de apartamento Duda e Samila, pelos momentos de distração e familiaridade.

Ao pesquisador Tarcísio Marcos de Souza Gondim, pelo auxílio e prontidão destinada a este trabalho.

Por fim, agradeço profundamente a TODOS que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a concretização deste trabalho.

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....                              | 01 |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....                   | 04 |
| 2.1 Considerações gerais sobre o amendoim .....         | 04 |
| 2.2 Cultivar BR-1.....                                  | 05 |
| 2.3 Cultivar BRS Havana.....                            | 07 |
| 2.4 Micoflora em sementes armazenadas .....             | 08 |
| 2.5 Aflatoxinas.....                                    | 10 |
| 2.6 Tratamento das sementes .....                       | 13 |
| 2.6.1. Espécie vegetal estudada.....                    | 15 |
| 2.7 Armazenamento das sementes .....                    | 16 |
| 2.8 Umidade .....                                       | 17 |
| 2.9 Temperatura .....                                   | 18 |
| 2.10 Embalagem.....                                     | 18 |
| 2.11 Longevidade e viabilidade de sementes.....         | 19 |
| 2.12 Crioconservação de sementes .....                  | 21 |
| <b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....                      | 24 |
| 3.1 Local de realização dos experimentos .....          | 24 |
| 3.2 Origem das sementes e dos frutos.....               | 24 |
| 3.3 Isolamento e desenvolvimento do fungo .....         | 24 |
| 3.4 Obtenção do extrato hidroalcoólico de sucupira..... | 25 |
| 3.5 Tratamento das sementes do amendoim .....           | 26 |
| 3.6 Tratamento dos frutos do amendoim .....             | 27 |
| 3.7 Primeiro experimento.....                           | 28 |
| 3.7.1 Análises das sementes.....                        | 28 |
| 3.7.1.1 Teor de umidade .....                           | 28 |
| 3.7.1.2 Determinação e avaliação da micoflora .....     | 29 |
| 3.7.1.3 Determinação da aflatoxina.....                 | 29 |
| 3.8 Segundo experimento.....                            | 33 |
| 3.8.1 Análises das sementes.....                        | 33 |
| 3.8.1.1 Teste de germinação .....                       | 34 |
| 3.9 Terceiro experimento .....                          | 34 |
| 3.9.1 Crioconservação das sementes.....                 | 34 |



|  |            |
|--|------------|
| 3.9.2 Teste de germinação.....                               | 35         |
| 3.9.3 Teste de vigor.....                                    | 36         |
| 3.10 Análise estatística.....                                | 36         |
| <b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                        | <b>38</b>  |
| 4.1 Primeiro experimento – BRS Havana.....                   | 38         |
| 4.1.1 Armazenamento das sementes inoculadas e não inoculadas |            |
| com o <i>A. flavus</i> .....                                 | 38         |
| 4.1.1.1 Teor de umidade.....                                 | 38         |
| 4.1.1.2 Incidência de fungos.....                            | 41         |
| 4.1.1.3 Determinação de aflatoxinas.....                     | 47         |
| 4.1.2 Armazenamento das sementes fora e dentro do fruto..... | 50         |
| 4.1.2.1 Teor de umidade.....                                 | 50         |
| 4.1.2.2 Incidência de fungos.....                            | 53         |
| 4.1.2.3 Determinação de aflatoxinas.....                     | 59         |
| 4.2 Segundo experimento – BR 1.....                          | 59         |
| 4.2.1 Armazenamento das sementes inoculadas e não inoculadas |            |
| com o <i>A. flavus</i> .....                                 | 59         |
| 4.2.1.1 Teor de umidade.....                                 | 59         |
| 4.2.1.2 Incidência de fungos.....                            | 61         |
| 4.2.1.3 Germinação.....                                      | 66         |
| 4.2.2 Armazenamento das sementes fora e dentro do fruto..... | 72         |
| 4.2.2.1 Teor de umidade.....                                 | 72         |
| 4.2.2.2 Incidência de fungos.....                            | 74         |
| 4.2.2.3 Germinação.....                                      | 79         |
| 4.3 Terceiro experimento – Crioconservação.....              | 84         |
| 4.3.1 Teor de umidade.....                                   | 84         |
| 4.3.2 Germinação.....  | 85         |
| 4.3.3 Vigor - Comprimento e matéria seca das plântulas.....  | 87         |
| 4.3.4 Incidência de fungos.....                              | 90         |
| 4.3.5 Determinação de aflatoxinas.....                       | 92         |
| <b>5. CONCLUSÕES.....</b>                                    | <b>94</b>  |
| <b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                    | <b>97</b>  |
| <b>7. APÊNDICE.....</b>                                      | <b>113</b> |

## LISTA DE FIGURAS

|                    |  |    |
|--------------------|--|----|
| <b>Figura 2.1</b>  | Planta, frutos e sementes da cv. BR-1.....   | 06 |
| <b>Figura 2.2</b>  | Planta, frutos e sementes da cv. BRS Havana.....   | 07 |
| <b>Figura 2.3</b>  | Sementes de sucupira ( <i>Pterodon emarginatus</i> Vog.).....  | 16 |
| <b>Figura 3.1</b>  | Colônia de <i>Aspergillus flavus</i> pura (a) e sementes inoculadas com <i>A. flavus</i> (b).....  | 25 |
| <b>Figura 3.2</b>  | Percolador de extração.....  | 26 |
| <b>Figura 3.3</b>  | Tratamento das sementes.....   | 27 |
| <b>Figura 3.4</b>  | Armazenamento das sementes.....  | 27 |
| <b>Figura 3.5</b>  | Tratamento dos frutos.....   | 28 |
| <b>Figura 3.6</b>  | Determinação da microflora.....  | 29 |
| <b>Figura 3.7</b>  | Extração e purificação das amostras.....   | 31 |
| <b>Figura 3.8</b>  | Esquema representando uma placa unidimensional de CCD (cromatografia em camada delgada).....   | 32 |
| <b>Figura 3.9</b>  | Teste de germinação da cultivar BR 1.....  | 34 |
| <b>Figura 3.10</b> | Teste de germinação.....   | 35 |
| <b>Figura 4.1</b>  | Placas cromatográficas mostrando o teste de recuperação das amostras de amendoim tratadas com extrato de sucupira.....   | 50 |
| <b>Figura 4.2</b>  | Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes de amendoim da cv. BR1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 5 meses de armazenamento.....   | 69 |
| <b>Figura 4.3</b>  | Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira (a): D <sub>0</sub> ; (b): D <sub>10</sub> ; (c): D <sub>40</sub> ; (d): D <sub>70</sub> ; (e): D <sub>100</sub> , inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 5 meses..... | 78 |

|                   |   |    |
|-------------------|---|----|
| <b>Figura 4.4</b> | Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses.....  | 81 |
| <b>Figura 4.5</b> | Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira (a): D <sub>0</sub> ; (b): D <sub>10</sub> ; (c): D <sub>40</sub> ; (d): D <sub>70</sub> ; (e): D <sub>100</sub> , armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses..... | 83 |
| <b>Figura 4.6</b> | Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas (C) e armazenadas em ambiente natural (AN) por 6 meses.....   | 82 |
| <b>Figura 4.5</b> | Representação gráfica do comprimento de plântula (a) e da matéria seca (b) das plântulas das sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas (C) e armazenadas em ambiente natural (AN) por 6 meses.....   | 89 |

## LISTA DE QUADROS

|  |    |
|--|----|
| <b>Quadro 2.1</b> Características da cv. BR 1.....                                 | 06 |
| <b>Quadro 2.2</b> Características da cv. BRS Havana .....                          | 08 |
| <b>Quadro 2.3</b> Fórmulas molecular e estrutural das principais aflatoxinas ..... | 11 |

## LISTA DE TABELAS

|                   |   |    |
|-------------------|---|----|
| <b>Tabela 4.1</b> | Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Doses x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....      | 38 |
| <b>Tabela 4.2</b> | Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Tempo x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....      | 39 |
| <b>Tabela 4.3</b> | Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Doses x Tempo das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....            | 40 |
| <b>Tabela 4.4</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratada com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....  | 42 |
| <b>Tabela 4.5</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Tempo x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento..... | 43 |
| <b>Tabela 4.6</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Tempo de sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....        | 45 |
| <b>Tabela 4.7</b> | Teste de Repetibilidade para amostras de amendoim sem tratamento.   | 48 |
| <b>Tabela 4.8</b> | Teste de Recuperação para amostras de amendoim isentas de aflatoxina e tratadas com extrato de sucupira.....  | 49 |
| <b>Tabela 4.9</b> | Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Doses x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....                        | 51 |

|                    |  |    |
|--------------------|--|----|
| <b>Tabela 4.10</b> | Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Tempo x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....                 | 52 |
| <b>Tabela 4.11</b> | Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Doses x Tempo das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....                                     | 53 |
| <b>Tabela 4.12</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....            | 54 |
| <b>Tabela 4.13</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Tempo x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....            | 55 |
| <b>Tabela 4.14</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Tempo em sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....                                 | 57 |
| <b>Tabela 4.15</b> | Valores médios do teor de umidade (%) para interação Tempo x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 5 meses de armazenamento.....        | 60 |
| <b>Tabela 4.16</b> | Valores médios do teor de umidade (%) para interação Doses x Tempo de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 5 meses de armazenamento.....               | 61 |
| <b>Tabela 4.17</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 5 meses de armazenamento..... | 62 |
| <b>Tabela 4.18</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Tempo x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 5 meses de armazenamento..... | 63 |

|                    |   |    |
|--------------------|---|----|
| <b>Tabela 4.19</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Tempo de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 5 meses de armazenamento..... | 65 |
| <b>Tabela 4.20</b> | Valores médios da (%) de germinação para a interação Doses x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 5 meses de armazenamento..... | 67 |
| <b>Tabela 4.21</b> | Valores médios da (%) de germinação para a interação Tempo x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BR1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 5 meses de armazenamento.....  | 68 |
| <b>Tabela 4.22</b> | Valores médios da (%) de germinação para a interação Doses x Tempo de sementes de amendoim da cv. BR1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 5 meses de armazenamento.....         | 70 |
| <b>Tabela 4.23</b> | Valores médios do teor de umidade (%) para interação Doses x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses.....                   | 72 |
| <b>Tabela 4.24</b> | Valores médios do teor de umidade (%) para interação Tempo x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses.....                   | 73 |
| <b>Tabela 4.25</b> | Valores médios do teor de umidade (%) para interação Doses x Tempo das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses.....                                       | 74 |
| <b>Tabela 4.26</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses.....            | 75 |
| <b>Tabela 4.27</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Tempo x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses.....            | 76 |

|                    |   |    |
|--------------------|---|----|
| <b>Tabela 4.28</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Tempo de sementes de amendoim tratadas da cv. BR 1 com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses.....                           | 78 |
| <b>Tabela 4.29</b> | Valores médios da (%) de germinação para a interação Doses x Condição de armazenamento das sementes de amendoim tratadas da cv. BR 1 com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses.....             | 80 |
| <b>Tabela 4.30</b> | Valores médios da (%) de germinação para a interação Tempo x Condição de armazenamento das sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses.....                         | 80 |
| <b>Tabela 4.31</b> | Valores médios da (%) de germinação para a interação Doses x Tempo de sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses.....  | 82 |
| <b>Tabela 4.32</b> | Valores médios do teor de umidade (%) das sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses.....   | 85 |
| <b>Tabela 4.33</b> | Valores médios da (%) de germinação das sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses.....   | 86 |
| <b>Tabela 4.34</b> | Valores médios do comprimento das plântulas (cm) e da matéria seca das sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses.....  | 88 |
| <b>Tabela 4.35</b> | Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação condição de armazenamento x Tempo em sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas e armazenadas em condição natural, por 12 meses.....                                      | 91 |
| <b>Tabela 4.36</b> | Quantidade de aflatoxina B <sub>1</sub> e B <sub>2</sub> (µg kg <sup>-1</sup> ) para a interação Condição de armazenamento x Tempo em sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses..... | 93 |



## APÊNDICE

|                  |  |     |
|------------------|--|-----|
| <b>Tabela A1</b> | Análise de variância dos valores médios de umidade das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....       | 113 |
| <b>Tabela A2</b> | Análise de variância da incidência de <i>A. flavus</i> nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....   | 113 |
| <b>Tabela A3</b> | Análise de variância da incidência de <i>A. niger</i> nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> durante 12 meses de armazenamento.....      | 114 |
| <b>Tabela A4</b> | Análise de variância da incidência de <i>Rhizopus</i> nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....    | 114 |
| <b>Tabela A5</b> | Análise de variância da incidência de <i>Penicillium</i> nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento..... | 115 |
| <b>Tabela A6</b> | Análise de variância dos valores médios de umidade das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....                                       | 115 |
| <b>Tabela A7</b> | Análise de variância da incidência de <i>A. flavus</i> nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....                                   | 116 |
| <b>Tabela A8</b> | Análise de variância da incidência de <i>A. niger</i> nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....                                    | 116 |
| <b>Tabela A9</b> | Análise de variância da incidência de <i>Rhizopus</i> nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....                                    | 117 |

|                   |  |     |
|-------------------|--|-----|
| <b>Tabela A10</b> | Análise de variância da incidência de <i>Penicillium</i> nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....                           | 117 |
| <b>Tabela A11</b> | Análise de variância dos valores médios de umidade das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....       | 118 |
| <b>Tabela A12</b> | Análise de variância da incidência de <i>A. flavus</i> nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....   | 118 |
| <b>Tabela A13</b> | Análise de variância da incidência de <i>A. niger</i> nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....    | 119 |
| <b>Tabela A14</b> | Análise de variância da incidência de <i>Rhizopus</i> nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....    | 119 |
| <b>Tabela A15</b> | Análise de variância da incidência de <i>Penicillium</i> nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento..... | 120 |
| <b>Tabela A16</b> | Análise de variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....    | 120 |
| <b>Tabela A17</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1, não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....  | 121 |
| <b>Tabela A18</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1, inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....  | 121 |
| <b>Tabela A19</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 sem tratamento, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento...                          | 122 |

|                   |   |     |
|-------------------|---|-----|
| <b>Tabela A20</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 10mL, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....  | 122 |
| <b>Tabela A21</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 40mL, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....  | 123 |
| <b>Tabela A22</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 70mL, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento.....  | 123 |
| <b>Tabela A23</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 100mL, inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , durante 12 meses de armazenamento..... | 124 |
| <b>Tabela A24</b> | Análise de variância dos valores médios de umidade das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....  | 124 |
| <b>Tabela A25</b> | Análise de variância da incidência de <i>A. flavus</i> nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....  | 125 |
| <b>Tabela A26</b> | Análise de variância da incidência de <i>A. niger</i> nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....   | 125 |
| <b>Tabela A27</b> | Análise de variância da incidência de <i>Rhizopus</i> nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....   | 126 |
| <b>Tabela A28</b> | Análise de variância da incidência de <i>Penicillium</i> nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....  | 126 |
| <b>Tabela A29</b> | Análise de variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....   | 127 |
| <b>Tabela A30</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1, armazenadas fora do fruto, durante 12 meses.....   | 127 |
| <b>Tabela A31</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1, armazenadas dentro do fruto, durante 12 meses.....   | 128 |

|                   |   |     |
|-------------------|---|-----|
| <b>Tabela A32</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 sem tratamento, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....   | 128 |
| <b>Tabela A33</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 10mL, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....  | 129 |
| <b>Tabela A34</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 40mL, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....  | 129 |
| <b>Tabela A35</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 70mL, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses.....  | 130 |
| <b>Tabela A36</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 100mL, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses..... | 130 |
| <b>Tabela A37</b> | Análise de variância dos valores médios de umidade das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses.....   | 131 |
| <b>Tabela A38</b> | Análise de variância dos valores médios de umidade das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses.....   | 131 |
| <b>Tabela A39</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios de germinação das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas, por 12 meses.....   | 132 |
| <b>Tabela A40</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios de germinação das sementes de amendoim da cv. BR Havana armazenadas em ambiente natural, por 12 meses.....   | 132 |
| <b>Tabela A41</b> | Análise de variância dos valores médios do comprimento de plântulas das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses....   | 133 |
| <b>Tabela A42</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios de comprimento de plântula de sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas, por 12 meses.....   | 133 |
| <b>Tabela A43</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios do comprimento das plântulas de sementes de amendoim da cv. BR Havana armazenadas em ambiente natural, por 12 meses.....   | 134 |

|                   |  |     |
|-------------------|--|-----|
| <b>Tabela A44</b> | Análise de variância dos valores médios da matéria seca das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses.....         | 134 |
| <b>Tabela A45</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da matéria seca das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas, por 12 meses.....                              | 135 |
| <b>Tabela A46</b> | Análise de regressão da variância dos valores médios da matéria seca de sementes de amendoim da cv. BR Havana armazenadas em ambiente natural, por 12 meses.....               | 135 |
| <b>Tabela A47</b> | Análise de variância da incidência de <i>A. flavus</i> das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses.....          | 136 |
| <b>Tabela A48</b> | Análise de variância da incidência de <i>Rizophus</i> das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses.....           | 136 |
| <b>Tabela A49</b> | Análise de variância da quantidade de aflatoxina B <sub>1</sub> nas sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses..... | 137 |
| <b>Tabela A50</b> | Análise de variância da quantidade de aflatoxina B <sub>2</sub> nas sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses..... | 137 |

## RESUMO

Realizou-se este trabalho com o objetivo de estudar a contaminação por fungos e micotoxinas em sementes de amendoim tratadas com diferentes doses de extrato hidroalcoólico de sucupira, acondicionadas em embalagens de algodão e também na crioconservação, durante o armazenamento, utilizando-se sementes de amendoim das cultivares BRS Havana e BR-1. As cultivares foram caracterizadas, inicialmente, quanto à micoflora, aflatoxina, ao teor de umidade e germinação e depois estudadas em três experimentos: *no primeiro experimento*, estudou-se o teor de umidade, micoflora e aflatoxina durante 12 meses de armazenamento, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, com os fatores: procedimento, doses dos extratos e tempo de armazenamento para as sementes inoculadas e não inoculadas com o *A. flavus* e os mesmos fatores para as sementes armazenadas dentro e fora do fruto; *no segundo experimento*, a cv. BR-1 foi submetida aos mesmos tratamentos aplicados à cultivar BRS Havana e avaliado o teor de umidade, micoflora e germinação durante 5 meses de armazenamento; *no terceiro experimento*, estudou-se o efeito da crioconservação na micoflora, viabilidade das sementes, teor de umidade e aflatoxina, nas sementes armazenadas em nitrogênio líquido e em ambiente natural. Concluiu-se que os fungos detectados nas amostras de amendoim vindo do campo e durante a armazenagem das sementes foram: *A. flavus*, *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium*, com predominância do *Aspergillus flavus*; contudo a incidência desses foi baixa nas sementes armazenadas dentro da vagem. As sementes armazenadas fora do fruto perderam acentuadamente a germinação com o avanço do período de armazenamento, enquanto as dentro do fruto mantiveram sua germinação ao longo do armazenamento e, as sementes armazenadas em nitrogênio líquido mantiveram sua viabilidade ao longo do armazenamento enquanto as armazenadas em condição natural perderam a viabilidade após 9 meses de armazenamento. A presença de aflatoxina acima do permitido pela legislação brasileira para comercialização do amendoim deu-se nas sementes crioconservadas e armazenadas em ambiente natural.

---

**Palavras-chave:** *Arachis hypogaea*, *Aspergillus flavus*, micotoxinas

## ABSTRACT

This work was performed to study the contamination by fungi and mycotoxins of peanut seeds treated with different doses of hydroalcoholic sucupira extract, packed in cotton containers and also in cryopreservation for storage, using peanut seeds of BRS Havana and BR-1 cultivars. The cultivars were characterized, initially, according aflatoxin mycoflora, moisture content and germination and then studied in three experiments: the first experiment, it was studied the moisture content, mycoflora and aflatoxin for 12 months of storage, using a completely randomized design, with factors: procedure, doses of the extracts and storage time for seeds inoculated and not inoculated with *A. flavus* and the same factors for the seeds stored inside and outside of the fruit; in the second experiment, the cv. BR-1 was subjected to the same treatments applied to BRS Havana and evaluated for moisture content, germination and mycoflora during 5 months storage; in the third experiment, it was studied the effect of cryopreservation on the mycoflora, seed viability, moisture content and aflatoxin in seeds stored in liquid nitrogen and natural environment. It was concluded that the fungi detected in samples of peanuts from the field and during storage of seeds were: *A. flavus*, *A. niger*, *Rhizopus* and *Penicillium*, with a predominance of *Aspergillus flavus*; however the incidence of these was low in the seeds stored inside the pod. The seeds stored outside of the fruit lost germination markedly with increasing the storage period, while inside the fruit maintained their germination during storage and, seeds stored in liquid nitrogen maintained their viability during storage, while stored at room natural lost viability after 9 months of storage. The presence of aflatoxin above the level allowed by Brazilian legislation for marketing of peanuts was given on the seeds cryopreserved and stored in the natural environment.

---

**Key-words:** *Arachis hypogaea*, *Aspergillus flavus*, mycotoxins

## 1. INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.), leguminosa de origem sul-americana, é uma das principais oleaginosas cultivadas no mundo. No Brasil, ocorre de Norte a Sul, nas mais variadas condições, em escala comercial ou em cultivos familiares, dependendo da região em que é produzido. Dados da CONAB (2008) indicam grande expansão da área cultivada nos últimos anos, aumento de produção e, principalmente, aumentos consistentes em produtividade, de forma que a produção de 142 mil t em 1995 passou para 250 mil t em 2006/07, enquanto a produtividade de 1.740 kg ha<sup>-1</sup> em 1994/96 para 2.300 kg ha<sup>-1</sup> em 2006/07.

No Nordeste Brasileiro o amendoim é uma cultura de ampla importância socioeconômica representando aproximadamente 5% da produção nacional, sendo referenciado como opção altamente viável para a agricultura familiar, por contribuir para a diversificação com outras culturas e para a autossustentabilidade da pequena propriedade agrícola (SANTOS et al., 2005). Nesta região, o cultivo do amendoim, se destaca por ser de fácil manejo, ciclo curto e preço atraente no mercado além de se constituir uma fonte adicional agregadora de renda em razão das várias formas de produtos que podem ser processados e incentivam a agroindústria regional. No entanto, seus produtores não utilizam técnicas avançadas no cultivo e na pós-colheita. Desta forma, o baixo nível tecnológico tem contribuído para o agravamento dos problemas de ordem fitossanitária, entre os quais se destacam a contaminação por fungos e aflatoxinas, os quais podem ocorrer durante a formação da semente, na colheita, no transporte e no seu armazenamento, que interagindo com fatores ambientais, podem ser capazes de acelerar o processo de deterioração.

O aumento significativo do consumo aliado ao da produção e da produtividade, se deve ao rendimento dos sistemas de produção e à aplicação de práticas que possibilitem manter a qualidade fisiológica e sanitária das sementes durante seu armazenamento. As sementes de amendoim podem ser armazenadas no próprio fruto, conferindo maior proteção aos grãos, ou fora deles, necessitando de um controle mais efetivo para a manutenção de sua qualidade.

Os fungos são os principais micro-organismos que causam a deterioração em sementes, sendo os do gênero *Aspergillus* os de maior incidência em sementes de amendoim, destacando-se as espécies *A. flavus*, *A. parasiticus* e *Penicillium* spp., os quais



se multiplicam rapidamente por toda a massa de semente armazenada, quando encontram condições favoráveis afetando, assim, o poder germinativo das sementes, como também ocasionando alterações bioquímicas, organolépticas e nutricionais. Muitos desses fungos produzem, ainda, substâncias tóxicas, denominadas micotoxinas que, em doses elevadas, são fatais ao homem e aos animais (SILVA et al., 1995a). Salienta-se que as condições climáticas da região nordeste, tal como a dos países tropicais (temperatura e umidade elevadas) favorecem a proliferação desses fungos, produzindo altos teores de micotoxinas. (MIDIO & MARTINS, 2000).

O procedimento para se combater esses patógenos se dá, normalmente pela aplicação de produtos químicos, método que se torna cada vez mais questionável devido à resistência que muitas espécies podem desenvolver, a contaminação do meio ambiente e até dos próprios consumidores.

Atualmente, é notória a necessidade de uma política que reduza o número de inseticidas e fungicidas químicos relacionados ao retardo, e até mesmo a inibição das ações microbianas de caráter deteriorante. Com isto, a aplicação de extratos vegetais no controle de fungos constitui uma alternativa para substituição dos fungicidas químicos, pela simplicidade de execução, menores riscos de intoxicação, poluição do ambiente e do solo, colaborando também no segmento de produtos orgânicos que vêm crescendo rapidamente nos últimos anos.

Diversos estudos relatam que os componentes principais encontrados nas plantas que possuem propriedades para controle de patógenos são os compostos fenólicos. De acordo com SCALBERT (1991), substratos ricos em taninos inibem o desenvolvimento de fungos pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Penicillium* e *Trichoderma*.

As sementes de sucupira (*Pterodon emarginatus* Vog.) são caracterizadas por apresentarem elevado teor de compostos fenólicos, principalmente taninos; assim, a utilização de extrato de sucupira no tratamento de sementes de amendoim durante o armazenamento poderá vir a ser uma alternativa viável no controle de fungos, em especial o *Aspergillus flavus*, como também dos metabólitos por estes produzidos. Ademais registra-se a facilidade na obtenção deste produto, geralmente disponível na propriedade, aliada ao seu fácil manejo, baixo custo e eficiência no controle, tornando compatível com a realidade sócioeconômica da maioria dos pequenos produtores que fazem, em especial, a agricultura familiar.

Outra alternativa que desponta quanto aos métodos tradicionais de conservação de sementes, é a criopreservação do material biológico, a temperaturas ultra-baixas (-196 °C) em nitrogênio líquido. Mediante este método, o material fica armazenado de maneira estável e, a esta temperatura, todos os processos metabólicos, como respiração e atividade enzimática, são paralisados, impedindo sua deterioração (ALMEIDA, 2006). Desta forma, por ser um método eficiente e prático de conservação é possivelmente, hoje em dia, a técnica que oferece mais vantagem para conservação *ex situ* das espécies vegetais em especial para aquelas em que a conservação convencional de sementes não pode ser utilizada satisfatoriamente. Não obstante, é oportuno realizar estudos para colocar esta técnica ao alcance de cada espécie, inclusive para cada genótipo e, sobretudo, para se compreender os mecanismos fisiológicos que atuam durante a criopreservação.

Com base nessas considerações objetivou-se, com o presente trabalho, estudar a criopreservação e a eficácia do tratamento dos frutos e sementes de amendoim com extrato hidroalcoólico de sucupira (*Pterodon emarginatus* Vog.) no controle de fungos, produção de aflatoxina e seus efeitos na qualidade fisiológica das sementes, especificamente:

- ✓ Detectar a ocorrência de fungos durante o armazenamento nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana e BR 1, tratadas com diferentes doses do extrato de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* e armazenadas dentro e fora do fruto;
- ✓ Verificar a ocorrência da contaminação por aflatoxinas durante o armazenamento nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com diferentes doses do extrato de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* e armazenadas dentro e fora do fruto;
- ✓ Estudar o efeito da aplicação do extrato de sucupira em suas diferentes doses na viabilidade das sementes de amendoim da cultivar BR 1, durante o armazenamento;
- ✓ Avaliar o efeito da criopreservação sobre a qualidade fisiológica, incidência de fungos e de aflatoxinas nas sementes de amendoim da cultivar BRS Havana, durante 12 meses de armazenamento.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Considerações gerais sobre o amendoim

O Amendoim é uma planta dicotiledônea da família *Fabaceae*, subfamília *Papilionoideae*, gênero *Arachis*, sendo as espécies mais importantes: *A. hypogaea* L., *A. prostrata* Benth e *A. nhambiquarae* Hochoe. (BRANKS, 1976), as quais ocorrem predominantemente no Brasil, Paraguai, Argentina, Bolívia e Uruguai (HAMMONS, 1970).

Sua planta apresenta sistema radicular muito extenso devido à própria característica de suas raízes (pivotante e laterais). Suas folhas são compostas, pinadas, com dois pares de folíolos inseridos num pecíolo de 4 a 9 cm, com flores em número de 2 a 6 e agrupadas em inflorescência pluriflora, com floração iniciando-se entre 20 e 35 dias após o plantio. O fruto é uma vagem ou legume, uniloculado, com casca constituída de protuberâncias longitudinais que, dependendo do grupo botânico, podem abrigar de 1 até 6 sementes, de acordo com a cultivar e as condições de plantio (NOGUEIRA & TÁVORA, 2005)

Segundo MORETTO & FETT (1998) as ramas da planta apresentam valor nutritivo na forma de forragem, sendo ricas em minerais e proteínas; a casca do amendoim possui, em sua composição de 6 a 7% de proteínas, além de apresentar nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre em sua composição; suas sementes são constituídas de 22 a 33% de proteínas, 43 a 54% de lipídios, 10 a 16% de carboidratos, 3 a 4% de fibras, 1 a 3% de minerais, além de vitaminas B1, B2, niacina e vitamina E. Desta forma, é considerada de alto valor nutricional, principalmente por ser um alimento calórico e rico em aminoácidos essenciais.

Devido ao seu elevado conteúdo e qualidade do óleo (média de 80% de ácidos graxos insaturados e de 20% de saturados) nas sementes, é considerado importante fonte de matéria-prima na indústria alimentícia, a qual o utiliza principalmente na produção de óleo vegetal (FREITAS et al., 2005). Ademais, é considerada a mais importante leguminosa, junto com o feijão e a soja, não só como alimento protéico e energético de reconhecida qualidade mas, também, como um dos principais produtores de óleo com amplas possibilidades de aproveitamento na indústria, inclusive como substituto para óleo diesel (SILVA et al., 2004). Plantado em todo mundo tem, como principais produtores: China

(12,5 milhões de toneladas), Índia (17,8 milhões de toneladas) e Estados Unidos (1,7 milhões de toneladas) (SANTOS et al., 2005).

No Brasil seu cultivo advém de Norte a Sul, nas mais variadas condições, em escala comercial ou em cultivos familiares, dependendo da região em que é produzido (SANTOS et al., 2005). O pico da sua produção se dá na entressafra mundial, o que o torna um importante exportador dessa leguminosa, com boas perspectivas de melhora, em especial pelo emprego de novas variedades que atende aos requisitos do mercado internacional (FREITAS et al., 2005).

O maior produtor brasileiro de amendoim é o Estado de São Paulo, concentrando-se nas regiões de Jaboticabal, Marília, Guaiara, Sertãozinho e Tupã. Nas décadas de 70 e 80 a produção declinou em razão da substituição desta cultura pela cultura da soja; a partir dos anos 2000, a produção acompanhou o crescimento brasileiro (SCALCO et al., 2008).

O Nordeste brasileiro é considerado o segundo polo consumidor dessa leguminosa, região em que é uma atividade basicamente de pequenos e médios produtores, os quais normalmente não se utilizam de técnicas avançadas em seu cultivo (SANTOS et al., 1996) porém o mesmo tem contribuído para sua agroeconomia, além de se constituir em fonte adicional e agregadora de renda em razão das várias formas de produtos que podem ser processados (SANTOS et al., 2006).

## **2.2 Cultivar BR-1**

A cultivar de amendoim BR 1 (Figura 2.1) foi lançada pela Embrapa Algodão em 1994, com o intuito de atender a uma demanda dos agricultores da região Nordeste do Brasil, em substituição à cv. Tatu que, nesta Região, apresentava grãos de baixo valor cultural por não ser adaptada às condições severas de estresse hídrico (SANTOS et al., 2006). Destaca-se por apresentar resistência à seca e alta precocidade, sendo um dos fatores que influem decisivamente no sucesso da cultura e suas sementes são de coloração avermelhada, sendo indicada para o mercado de consumo in natura e para a indústria de alimentos (SANTOS et al., 2005).

Um resumo das características desta cultivar se encontra no Quadro 2.1.



**Figura 2.1** Planta, frutos e sementes da cv. BR 1

**Quadro 2.1** Características da cv. BR 1

| Características                               | Valor |
|---|-------|
| Ciclo (dias após a emergência - DAE)          | 89    |
| Início da floração (DAE)                      | 22    |
| Rendimento em casca (kg ha <sup>-1</sup> )    | 1700  |
| Nº de vagens maduras por planta               | 27    |
| Peso de 100 vagens (g)                        | 148   |
| Peso de 100 sementes (g)                      | 48    |
| Vagem chocha (%)                              | 12    |
| Semente perfeita (%)                          | 84    |
| Rendimento em sementes (kg ha <sup>-1</sup> ) | 1250  |
| Teor de óleo (%)                              | 45    |
| Teor de proteínas (%)                         | 38    |
| Teor de carboidratos (%)                      | 6,17  |
| Teor de fibras (%)                            | 3,83  |
| Teor de cinzas (%)                            | 2,67  |

Fonte: SILVA et al. (2004)

### 2.3 Cultivar BRS Havana

A BRS Havana (Figura 2.2), cujas características principais se encontram no Quadro 2.2, é uma cultivar de porte ereto, obtida através de vários ciclos de seleção exercidos no acesso CNPA 75 AM (Película Havana), originário de São Paulo e cedido pelo Instituto Agrônomo (IAC) no início da década de 80, para melhoramento de tamanho, forma dos grãos e adaptação ao clima semiárido, visto que o acesso original apresentava ciclo entre 110 e 115 dias, baixa adaptação ao ambiente semiárido, além de grande vulnerabilidade à mancha-castanha (SANTOS et al., 2006).



**Figura 2.2** Planta, frutos e sementes da cv. BRS Havana

A produtividade média é de  $1.900 \text{ kg ha}^{-1}$  de vagens com rendimento de semente de 72% (SANTOS & SUASSUNA, 2006). Quanto às características nutricionais, suas sementes apresentam 43% de óleo, 28% de proteína e 19% de carboidratos, o que a coloca como boa indicação para o mercado de alimentos podendo atender, assim, à demanda crescente do mercado, especialmente de confeitaria e salgados (SANTOS et al., 2006).

**Quadro 2.2** Características da cv. BRS Havana

| Características                      | Valor               |
|--------------------------------------|---------------------|
| Ciclo (dias após a emergência - DAE) | 90                  |
| Início da floração (DAE)             | 25                  |
| Altura da haste principal (cm)       | 34 – 40             |
| Cor da haste                         | Verde – arroxeadada |
| Cor dos ginóforos                    | Arroxeadada         |
| Cor da semente                       | Bege                |
| Forma da semente                     | Redonda             |
| Tamanho da semente                   | Médio               |
| Nº de vagens maduras por planta      | 39 – 45             |
| Número de sementes por vagem         | 3 – 4               |
| Peso de 100 vagens (g)               | 141 – 145           |
| Peso de 100 sementes (g)             | 45 – 48             |
| Vagem chocha (%)                     | 10 – 12             |
| Semente perfeita (%)                 | 90 – 92             |
| Proteína nas folhas (%)              | 28                  |
| Proteína nas hastes (%)              | 9                   |

Fonte: SANTOS et al. (2006)

## 2.4 Micoflora em sementes armazenadas

Os fungos são um dos principais micro-organismos presentes nas sementes armazenadas, constituindo uma das causas evidentes de deterioração durante o armazenamento (PUZZI, 2000). Por sua vez eles podem associar-se às sementes durante o desenvolvimento ou após a maturidade fisiológica os quais, quando presentes antes da colheita, são denominados fungos de campo que, em geral, têm sua incidência reduzida no armazenamento enquanto os de armazenamento, que frequentemente estão presentes no momento da colheita, se desenvolvem afetando negativamente a qualidade dessas sementes (CARVALHO & VILELLA, 2006), promovendo perda do poder germinativo, alterando condições físicas, o aspecto externo, reduzindo o valor nutritivo, produzindo micotoxinas e favorecendo a ação de outros agentes de deterioração (FONSECA, 2009).

De acordo com SILVA et al. (1995b), muitos desses fungos produzem substâncias tóxicas denominadas micotoxinas as quais, em doses elevadas, são fatais ao homem e aos

animais. De maneira que as condições climáticas dos países tropicais que apresentam condições de temperatura e umidade elevadas, favorecem a proliferação desses fungos nos produtos agrícolas, determinando altos teores de micotoxinas (MIDIO & MARTINS, 2000), que são definidos como metabólitos secundários, sintetizados no final da fase exponencial de crescimento de alguns fungos, podendo desenvolver atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica (FARIAS et al., 2000).

Esses fungos toxigênicos podem infectar os cultivos em crescimento, em consequência de danos causados por insetos e outros agentes e produzir toxinas antes e durante a colheita, tal como no armazenamento. O *Aspergillus flavus* e *parasiticus* têm sido relacionados como contaminadores de produtos orgânicos e inorgânicos (FERREIRA et al., 2006) visto que compreendem duas das espécies mais importantes do gênero, apresentam colônias caracteristicamente verdes e amarelas, tornando-se acinzentadas com a idade (PEREIRA et al., 2002).

Os *Aspergillus* possuem esporos pequenos medindo aproximadamente 4-7 x 6-8 µm, razão pela qual são facilmente transportados no campo pelo vento, a longas distâncias, de modo que todo e qualquer substrato vegetal contaminado poderá levar esses fungos para os locais de armazenagem ou industriais nos quais, em condições de umidade acima de 13% e temperatura favorável, seu micélio invade os órgãos de reserva das sementes, terminando por decompô-lo (REIS & CASA, 1999).

Alguns produtos são substratos mais aptos que outros para o crescimento de determinados fungos (ROSSETTO et al., 2003). As sementes oleaginosas reúnem características e condições ideais para o seu desenvolvimento, apresentando conseqüentemente, maior ocorrência de aflatoxinas (SABINO & RODRIGUEZ, 1993).

DINIZ et al. (2001) identificaram, estudando a micoflora de sementes de amendoim armazenadas, os seguintes fungos: *Penicillium* sp.; *Aspergillus* sp.; *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus*.

BELLETTINI et al. (2005) detectaram *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Cercospora arachidicola*, *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp. e *Phoma* sp. associados às sementes e plântulas de amendoim cv. Tatu.

ROSSETTO et al. (2003) avaliando o efeito da calagem, da colheita e da secagem na qualidade sanitária de amendoim cv. Botutatu, verificaram que a calagem não interfere na população de *Aspergillus* spp. no solo e não previne sua contaminação nas vagens nem nas sementes e que o atraso na época de colheita proporciona aumento da contaminação de *Aspergillus flavus* nas vagens e da produção de aflatoxina G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>.



NÓBREGA e SUASSUNA (2004) realizando análise sanitária em sementes de amendoim armazenadas em algumas áreas do estado da Paraíba, identificaram: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus stolonifer*, *Sclerotium* sp. e *Phoma* sp.

## 2.5 Aflatoxinas

As aflatoxinas são as micotoxinas que mais causam detrimento à saúde humana (QUEIROZ et al., 2006), estando incluída como as micotoxinas mais importantes devido ao seu potencial toxigênico (PINTO, 2004).

Foram reconhecidas como substâncias tóxicas no fim da década de 60 na Inglaterra, quando identificadas como causa da morte de um grande número de aves que, quando afetadas, morriam no espaço de uma semana, denominada “doença X dos perus”, em que a mesma foi atribuída a substâncias das rações administradas às aves, reação esta originária da América do Sul e, mais especificamente, do Brasil (MIDIO & MARTINS, 2000).

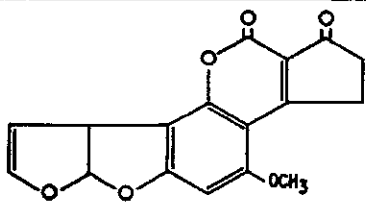
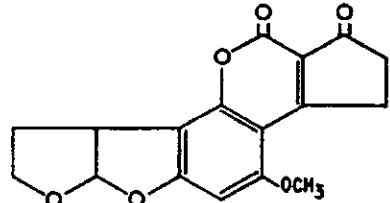
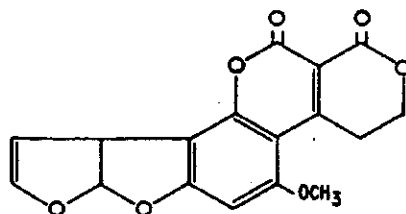
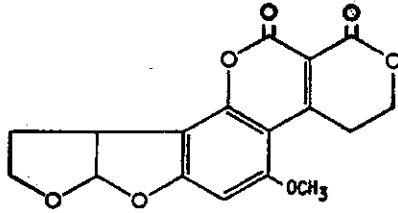
São produzidas principalmente pelo *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*; seus metabólitos são identificados como B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> (Quadro 2.3); B e G se devem ao fato das aflatoxinas apresentarem fluorescência azulada e esverdeada, respectivamente, quando observadas sob a luz ultravioleta (SHUNDO et al., 2003), sendo a B<sub>1</sub> considerada a mais tóxica (FARIAS et al., 2000).

O *A. flavus* produz apenas a aflatoxina B sendo que aproximadamente 40% das cepas são produtoras; já o *A. parasiticus* produz tanto a aflatoxina B como a G, tendo-se que 100% das cepas isoladas do ambiente são produtoras. Essas duas espécies são relacionadas morfológicamente, tanto que a maioria dos autores não as diferencia. Porém são bastante distintas no comportamento ecológico e biológico (SUASSUNA et al., 2006).

Existem cerca de 300 micotoxinas isoladas na atualidade, porém as toxinas mais comumente encontradas em alimentos e que, comprovadamente, têm propriedades tóxicas acentuadas, são as aflatoxinas, zearalenona, ochatoxina e fumosina (SABINO et al., 1999).

Segundo CARVALHO (2005) a contaminação de produtos agrícolas com aflatoxina já foi relatada em vários países. No Brasil, o mais frequente é o amendoim, sua contaminação pode ocorrer em todas as fases da cadeia produtiva (semeadura – consumo), por ser um grão facilmente contaminado por micotoxinas, principalmente aflatoxinas (MANUAL, 2004).

**Quadro 2.3** Fórmulas molecular e estrutural das principais aflatoxinas

| Aflatoxina     | Fórmula molecular                              | Fórmula estrutural   |
|----------------|--|--|
| B <sub>1</sub> | C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> |    |
| B <sub>2</sub> | C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> |    |
| G <sub>1</sub> | C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub> |   |
| G <sub>2</sub> | C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub> |  |

Fonte: MIDIO & MARTINS (2000)

Suas vagens podem ser infectadas na fase de granação (pré-colheita) e durante o armazenamento (pós-colheita), favorecida pela temperatura média do solo e estresse hídrico, no período de 3 a 6 semanas do seu ciclo de produção (PIO-RIBEIRO et al., 2005). Durante a colheita a seleção de material danificado, atacado por insetos, vagens chochas, com bolores, é um dos pontos de controle mais importantes para prevenir a contaminação por aflatoxina, de modo que a manutenção das vagens com umidade inferior a 10% é uma garantia de que o fungo produtor de aflatoxina não terá chance de se desenvolver; assim sendo, o monitoramento das condições ambientais durante o transporte e o armazenamento do amendoim se constitui em importante ponto crítico de controle (SUASSUNA et al., 2006).

A presença de aflatoxina nas sementes de amendoim podem causar o mofo amarelo, considerado um dos maiores problemas de exportação do amendoim (PIO-

RIBEIRO et al., 2005). Já seus efeitos nos animais é bastante variável dependendo da idade, sexo, espécies, condição nutricional do animal, dose, frequência e composição da dieta. Têm efeito mutagênico, carcinogênico e teratogênico e causam toxidez aguda no homem e animais afetando, entre outros órgãos, principalmente o fígado (ATHIÉ et al., 1998).

No controle de qualidade do amendoim são considerados dois critérios: a classificação do produto e o limite de tolerância da aflatoxina (FREITAS et al., 2005). De acordo com GODOY et al. (1999), a presença de aflatoxina em sementes de amendoim gera problemas socioeconômicos pela redução do seu cultivo no Brasil, afetando a comercialização interna como a exportação, pelo efetivo controle de qualidade dos produtos pelos países importadores. A agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA), pela RDC nº 24 de 15/10/2002 determina valores máximos do somatório das aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, em grãos de milho e amendoim, com valores que não ultrapassem de 20 µg kg<sup>-1</sup>.

SHUNDO et al. (2003), analisaram amostras de amendoim e produtos derivados comercializados na região de Marília, SP, e encontraram 64,4% das amostras contaminadas com aflatoxina, das quais 39,1% excederam os limites da legislação brasileira em vigor, que na época da realização do estudo era de 30 µg kg<sup>-1</sup> para somatória de AFB<sub>1</sub> e AFG<sub>1</sub>.

BATATINHA et al. (2003), estudando a ocorrência de aflatoxinas em amendoim e seus produtos comercializados na Bahia durante o ano de 2002, verificaram a presença de de aflatoxinas em 93,55% das amostras de amendoim, nas quais 54,84% excederam o limite de 20 µg kg<sup>-1</sup> de B<sub>1</sub> + B<sub>2</sub> + G<sub>1</sub> + G<sub>2</sub> e para amostras de derivados de amendoim apenas 8,7% excederam o limite de forma que os autores ressaltam a necessidade de um controle eficaz dos níveis de aflatoxinas desses produtos na região.

Em estudo sobre a ocorrência de aflatoxinas em feijões comercializados no mercado varejista de Goiânia, SILVA et al. (2002) constataram que apenas uma amostra se revelou contaminada com aflatoxina B<sub>1</sub> e G<sub>1</sub>; a mesma foi submetida a cocção sob pressão de 0,7 Kgf cm<sup>-2</sup> por 30 min a temperatura de 116 °C, e novamente analisada, a qual se mostrou com os mesmos níveis de toxina, demonstrando a insuficiência desse tipo de tratamento térmico na sua inativação.

SANTOS et al. (2001), avaliando a contaminação por aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de São José do Rio Preto, SP, verificaram uma contaminação por aflatoxinas nas amostras analisadas, em torno de 39,3%, com maior incidência em amostras de amendoim cru mostrando, assim, que as

investigações sobre a ocorrência de aflatoxinas em alimentos são de grande importância para o desenvolvimento de ações de controle de produtos susceptíveis a esse tipo de contaminação.

CALDAS et al. (2002) detectaram, analisando 366 amostras de alimentos (amendoim e derivados, castanhas, milho, produtos de trigo e/ou aveia, arroz e feijão) consumidos no Distrito Federal, 19,6% das amostras contaminadas com aflatoxinas, de forma que a maior incidência foi nos produtos de amendoim e derivados.

QUEIROZ et al. (2006) determinando a concentração de aflatoxinas em sementes de amendoim armazenadas em condições ambiente e em câmara fria, verificaram a não ocorrência de aflatoxinas durante todo o período de armazenamento.

Da mesma forma, SILVEIRA & MASSON (2003) evidenciaram, em seu estudo em amendoim e derivados, a ocorrência de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> em níveis de contaminação que podem ser considerados preocupantes deixando patente a necessidade de um controle contínuo da presença de aflatoxinas em alimentos visando salvaguardar a saúde do consumidor e minimizar os riscos de intoxicação de origem alimentar.

## **2.6 Tratamento das sementes**

O tratamento das sementes é realizado com a finalidade de evitar ataques de insetos e micro-organismos de armazenamento, além de promover o bom estabelecimento de plantas no campo (ALMEIDA et al., 1997), pelo fato de originar plantas vigorosas e saudáveis, pela possível eliminação dos patógenos presentes nas sementes ou por protegê-las contra sua ação no ambiente.

Conforme METEN (1996) um produto ideal deverá ser altamente eficiente no controle das doenças e pragas, não ser fitotóxico para as sementes, não apresentar toxicidade para o homem e animais, ser econômico, de fácil aplicação, não ser corrosivo e ser estável por um período longo.

O emprego de produtos químicos tem sido o principal meio de controle de pragas na agricultura e nos produtos armazenados, por ser efetivo, de baixo custo e de fácil manejo (ALMEIDA et al., 2005); no entanto, o uso indiscriminado de produtos químicos tem levado ao desenvolvimento da resistência em pragas, devido à alta frequência de aplicações de dosagens incorretas em períodos de exposição inadequados e em ambientes não herméticos, o que leva ao uso de dosagens cada vez mais elevadas, ao aumento de tempo de exposição, aos níveis inaceitáveis de resíduos, à possibilidade de intoxicação dos

operadores e, conseqüentemente ao aumento de custos sociais, ambientais e de produção (COELHO et al., 2000).

No caso do armazenamento em propriedades rurais, onde geralmente se trabalha com pequenas quantidades de sementes, ALMEIDA et al. (1997) indicam, como alternativa ao tratamento de sementes, o emprego de produtos naturais de origem vegetal na forma de pós e extrato hidroalcoólico, visando protegê-los contra o ataque de fungos de armazenamento e em virtude, também, de reduzir os custos de produção, evitando danos de toxidez ao homem e proporcionando maior rentabilidade a empresa agrícola e ao agricultor, devido a um ganho adicional superior aos gastos.

A flora brasileira é bem diversificada em espécies que possuem importância terapêutica, a qual pode ser usada tanto na medicina quanto na agricultura natural. Por serem ricas em taninos e quinonas que apresentam características fitoterápicas e de substâncias com diferentes estruturas químicas e com diversas atividades contra insetos e micro-organismos patogênicos (CARVALHO et al., 2002).

Ademais, o emprego de substâncias extraídas de plantas apresenta inúmeras vantagens sobre os sintéticos, por serem renováveis, facilmente degradáveis, desenvolvimento de resistência é lento, não deixam resíduos aos alimentos, seguros aos operadores, de baixo custo, acessível aos pequenos produtores (OLIVEIRA et al., 2007). Assim, um entendimento melhor dos processos naturais de controle de organismos prejudiciais à produção agrícola, incluindo a investigação sobre extratos de plantas com efeito inseticida e fungicida que possa trazer benefícios importantes ao agricultor, como a obtenção de produtos de baixo custo e de fácil acesso e manuseio, constitui-se em importante rumo à sustentabilidade da agricultura, em especial a pequena e média propriedade agrícola.

CHATTERJEE (1991) avaliando 18 espécies vegetais no tratamento do milho durante o armazenamento observou a inibição no desenvolvimento dos fungos *Aspergillus flavus*, *A. glaucus*, *A. niger*, *Curvularia palescens* e *Chaetomium indicum*.

Sementes de arroz tratadas com diferentes extratos aquosos de *Cycas revoluta* e *Thuja orientalis* foram armazenadas em diferentes condições, por KUMAR (1990), tendo o mesmo constatado, depois do armazenamento, controle dos fungos e redução da germinação para as sementes tratadas nas maiores concentrações.

VIEGAS et al. (2005) estudando a toxicidade de óleos essenciais de alho e da casca de canela no controle de fungos do grupo *Aspergillus flavus*, concluíram que ambos os

óleos essenciais inibiram o desenvolvimento micelial desse fungo; contudo houve variabilidade na população do fungo quanto à sensibilidade aos óleos.

BARRETO et al. (2003) avaliando a incidência de fungos em sementes de algodoeiro tratadas com extrato de *Agave sisalana*, verificaram que o uso do extrato curtido controlou os fungos *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp., em torno de 47,20 e 39,53%, respectivamente.

WILLIAMS & MANSINGH (1993) testaram o potencial inseticida de extratos etanólicos de folhas de 60 plantas pertencentes a 32 famílias e 52 gêneros, em relação a adultos de *Tribolium confusum* e observaram que 13 extratos ocasionaram índices de mortalidade que variaram entre 53 e 100%, com destaque para *Bontia daphnoides*, *Cuscuta americana* e *Dioscorea polygonoides*, que apresentaram total atividade inseticida.

ALMEIDA et al. (2005) extraíram, de oito espécies botânicas, extratos alcoólicos e os empregaram no controle do *Collosobruchus maculatus*, tendo-se obtido 100% de controle com os extratos de *Azadiracta indica* e *Colopogonium caeruleum*, 99,5% com *Piper nigrum*, 99% com *Annona squamosa*, 98,5% com *Cróton tiglium*, 98% com *Mentha piperita*, 95% com *Anthemis nobilis* e 61% com o extrato de *Camelis sinensis*.

### 2.6.1. Espécie vegetal estudada

A sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vog.) espécie nativa do cerrado brasileiro, é uma árvore hermafrodita da família *Fabaceae*, que pode atingir até 15 m de altura (LORENZI & MATOS, 2002). Seus frutos (Figura 2.3) têm sido bastante utilizados na medicina popular, de forma que contêm um óleo caracterizado por possuir atividade anti-inflamatória, utilizado assim para o tratamento de dores de garganta (SANTOS FILHO et al., 1972).

Segundo SILVA et al. (2005) o extrato das sementes apresenta potencial no controle de fungos e bactérias, resultado que, em parte, concorda com os de JUNQUEIRA et al. (2003a) ao constatarem a eficácia do extrato de sucupira na conservação da manga armazenada no controle da antracnose. Igualmente, JUNQUEIRA et al. (2003b) verificaram o controle da antracnose na banana o que ocasionou aceleração no amadurecimento, com efeito fitotóxico em concentrações acima de 25 mL L<sup>-1</sup>.



**Figura 2.3** Sementes de sucupira (*Pterodon emarginatus* Vog.)

### **2.7 Armazenamento das sementes**

O armazenamento se inicia quando a semente atinge a maturidade fisiológica e não apenas quando ela entra no armazém, de forma a evitar perdas e preservar sua qualidade (FARONI et al., 1995). É uma das técnicas mais importantes na agricultura, reconhecida desde que o homem começou a domesticar plantas, com o objetivo principal de conservar as sementes, minimizando sua deterioração e preservando a qualidade (CARVALHO & VILLELA, 2006) até o momento da sementeira.

De acordo com HARA et al. (1997) mesmo que as sementes recebam todas as condições e tratamentos durante o cultivo, se estas forem mal armazenadas, poderão deteriorar-se em poucos dias. Contudo, os cuidados para a manutenção da sua qualidade deverão ocorrer da colheita até o plantio seguinte, implantando processos que assegurem manter sua qualidade pela redução das atividades metabólicas evitando, então perdas no seu aspecto quantitativo e qualitativo (PEDROZA et al., 1999).

Modernas técnicas permitem prolongar a vida útil das sementes durante o armazenamento mas não melhorar as sementes de baixa qualidade inicial, uma vez que estas pertencem à categoria de produtos deterioráveis (ALMEIDA et al., 1997). Sua qualidade final é influenciada pelas condições ambientais do armazenamento, em que qualidade inicial, longevidade, teor de umidade, danos térmicos, suscetibilidade a danos mecânicos, condições de armazenamento, ataque de fungos, insetos e roedores, são referenciados com os principais fatores (SILVA et al., 1995b).

A produção de sementes de amendoim demanda alta tecnologia para evitar vários riscos que, comumente ocorrem desde a colheita até a comercialização. De forma que, como a maioria das leguminosas, o amendoim mostra uma rápida perda da viabilidade durante o armazenamento, dependendo do conteúdo de água, das condições ambientais e da aplicação de fungicida (USBERTI & AMARAL, 1999).

De acordo com BOLONHEZI et al. (2005) armazenar o amendoim em casca é uma forma importante de proteção dos seus grãos. AZEREDO et al. (2005), estudando a conservação de sementes de amendoim em função do beneficiamento, embalagem e ambiente de armazenamento, detectaram que sementes armazenadas dentro dos frutos em ambiente de câmara seca apresentaram vigor elevado ao longo do armazenamento, independentemente da embalagem; sementes de amendoim extraídas dos frutos, acondicionadas na embalagem metálica e mantidas em ambiente não controlado, perderam acentuadamente o vigor, após seis meses de armazenamento.

## 2.8 Umidade

O teor de umidade das sementes é fator determinante na manutenção de sua qualidade durante o armazenamento. Por interferir na redução da velocidade de respiração que, por sua vez, é controlada com baixos valores do teor de umidade, assim produtos úmidos normalmente têm um metabolismo acelerado (PUZZI, 2000), é imprescindível no controle a proliferação de fungos e, conseqüentemente, a deterioração do produto armazenado (RADUNZ et al., 2006).

Conforme ALMEIDA et al. (1997) as sementes normalmente são colhidas com teor de umidade superior àqueles adequados para um armazenamento seguro. Logo, uma das estratégias para uma melhor conservação de sementes de amendoim, é a secagem, pois o excesso de umidade pode ocasionar problemas relacionados ao desenvolvimento de fungos e produção de toxinas. De forma que, para que ocorra o desenvolvimento desses fungos em sementes armazenadas sua umidade deve ser superior a 7% b.u (USBERTI & AMARAL, 1999).

NÓBREGA & SUASSUNA (2004), avaliando a sanidade de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) armazenadas em algumas localidades do estado da Paraíba, afirmaram que os cuidados no armazenamento com relação principalmente ao controle da umidade e temperatura, auxiliam na prevenção das doenças fúngicas das



sementes do amendoim, tanto para o consumo in natura quanto para produtos industrializados.

GURJÃO (1995) avaliando a qualidade fisiológica em sementes de amendoim armazenadas durante doze meses em sacos de aniagem, verificou que o teor de umidade das sementes foi diretamente influenciado pela umidade relativa do ar, ocorrendo variações durante o armazenamento.

## 2.9 Temperatura

As condições ambientais são definidas pela temperatura e umidade relativa do ar (SILVA et al., 1995b). A temperatura exerce total influência na conservação de materiais biológicos que se conservam melhor quando armazenados em ambiente refrigerado do que em altas temperaturas, quando a maioria das reações químicas é acelerada (PUZZI, 2000). Porém, não se pode esquecer da sua importância quando associada à umidade da semente no controle dos processos de deterioração (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

De acordo com ALMEIDA et al. (2006) as sementes mantêm, por mais tempo, a viabilidade, quando armazenadas em ambiente frio e seco, afirmativa que concorda com as observações de CARVALHO & VILLELA (2006), de que a velocidade de respiração aumenta com o aumento da temperatura e, por conseguinte, maior aceleração no processo de deterioração.

Segundo ATHIÉ et al. (1998) a temperatura afeta também o crescimento fúngico, de modo que, para o crescimento de várias espécies, a temperatura ótima é de aproximadamente 30 °C, que é uma temperatura ambiente comum das regiões tropicais. Alguns fungos têm crescimento limitado a temperaturas elevadas mas algumas espécies, tais como *Aspergillus flavus*, crescem a temperatura de até 50–55 °C. Por outro lado, *Penicillium spp.*, podem crescer em temperaturas de até -2 °C mas requerem um elevado conteúdo de umidade no produto.

## 2.10 Embalagem

De acordo com CARVALHO & VILLELA (2006) as embalagens são classificadas como: porosas ou permeáveis (que permitem troca de vapor de água entre a semente e o ambiente), semipermeáveis ou semiporosas (permitem determinada troca de vapor de água

entre a semente e o ambiente externo) e impermeáveis (não admitem troca de umidade da semente com o meio exterior).

A escolha correta do tipo de embalagem para o armazenamento de sementes sob condições ambientais favoráveis minimiza perdas qualitativas e quantitativas, além de permitir maior flexibilidade na sua comercialização. Neste processo de escolha do tipo de embalagem a ser usada, deve-se levar em consideração as condições climáticas nas quais a semente vai permanecer armazenada, o tempo de armazenamento da semente, o valor da semente, a quantidade de semente por embalagem, a modalidade de comercialização, as características mecânicas da embalagem, a disponibilidade no comércio e o custo da embalagem (CARVALHO & VILLELA, 2006).

MORAES (1996) ao estudar a ocorrência de pragas em sementes de amendoim acondicionadas em três embalagens sob condições ambientais em duas microrregiões do estado da Paraíba, verificou que as sementes fora do fruto são mais susceptíveis ao ataque de pragas, como também as embalagens impermeáveis apresentam menos sementes danificadas que nas embalagens semipermeáveis e permeáveis.

ALMEIDA et al. (1999), ao estudarem a influência da embalagem e do local de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de gergelim, verificando que a resposta diferencial à viabilidade, em todos os fatores analisados, está associada ao tipo de embalagem, que determina a longevidade da semente durante o período de armazenamento.

### **2.11 Longevidade e viabilidade de sementes**

A longevidade das sementes está relacionada ao período em que a mesma permanece viva sob condições ideais de armazenamento (CARVALHO & VILLELA, 2006). A qualidade fisiológica está relacionada com a capacidade de desempenhar suas funções vitais (germinação, vigor e longevidade), e os efeitos sobre esta geralmente são traduzidos pelo decréscimo na porcentagem de germinação, no aumento de plântulas anormais e pela redução no vigor (PUZZI, 2000).

Segundo BRASIL (1992), uma das primeiras características a serem analisadas na qualidade fisiológica de um lote de sementes é a porcentagem de germinação que, em teste de laboratório é definida como sendo a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião (sistema radicular, parte aérea, cotilédone e coleóptilo)

considerando-se o seu desenvolvimento para produzir uma planta normal em condições favoráveis de campo.

Mesmo nas melhores condições de armazenamento, as sementes perdem em geral, sua viabilidade, necessitando de um controle periódico (ALMEIDA et al., 1997); contudo, sementes mais longevas podem manter por mais tempo tanto o poder germinativo quanto um vigor aceitável (SILVA et al., 1995a). Assim, GUIMARÃES et al. (2006) afirmam que a perda da germinação é uma das manifestações finais do processo de deterioração das sementes.

O amendoim sob condições ideais germina em torno de 4 a 5 dias, cuja velocidade atinge níveis máximos na temperatura de 32 a 34 °C, enquanto em temperaturas mais baixas ocorre redução (NOGUEIRA et al., 2005). Contudo, como a maioria das leguminosas, normalmente suas sementes apresentam uma perda rápida de viabilidade durante o armazenamento, influenciada pelas condições ambientais, teor de umidade e da aplicação de fungicida (USBERTI & AMARAL, 1999).

Em estudo sobre a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de amendoim armazenadas durante 12 meses em câmara seca sob diferentes tratamentos (sementes tratadas com o fungicida PCNB 75% e sementes não tratadas mantidas em embalagens de papel e recipiente metálico), DINIZ et al. (2001) verificaram que as sementes tratadas com fungicida têm um percentual de germinação maior, vigor e de sanidade, que as sementes sem tratamento fúngico, e que as embalagem não influenciaram no vigor sem na micoflora das sementes armazenadas.

Entre os testes de vigor pode-se destacar: altura ou comprimento de plântula e o peso da matéria seca, os quais avaliam o vigor relativo de lotes de sementes, com base no princípio de que as sementes que produzem plântulas com maiores valores de comprimento médios da parte aérea e com maior peso de matéria seca são consideradas mais vigorosas (VIEIRA & CARVALHO, 1994).

GURJÃO et al. (1995) estudando a viabilidade de sementes de amendoim durante 12 meses de armazenamento, evidenciaram redução de 24,3% no vigor das sementes.

BRUNO et al. (2000), estudando a qualidade fisiológica de sementes de amendoim tratadas e sem fungidas e armazenadas em ambiente não controlado e em câmara seca, verificaram decréscimo da germinação nas sementes armazenadas em ambiente não controlado, de forma mais acentuada nas sementes fora do fruto, sem tratamento fungicida; já as sementes armazenadas em câmara seca mantiveram a germinação, durante o período de armazenamento.

BELLETTINI et al. (2005) estudando a patogenicidade de fungos associados às sementes de amendoim, concluíram que os fungos podem causar tombamento na pré e pós-emergência das sementes e reduzir drasticamente seu percentual de germinação.

Tratando-se da aplicação de extratos vegetais, FLORES et al. (1993) trabalhando com sementes de feijão tratadas com extrato de pimenta do reino em diferentes concentrações, verificaram que durante 90 dias de armazenamento a viabilidade das sementes decresceu com o aumento das concentrações do extrato.

GOLDFARB (1997) trabalhando com sementes de milho com extratos vegetais de pimenta do reino, laranja, cróton e crisântemo, verificou que as sementes não perderam significada porcentagem de germinação e vigor durante o período em que permaneceram armazenadas.

## **2.12 Crioconservação de sementes**

Segundo COELHO (2006) a técnica da crioconservação consiste em conservar o material biológico em temperaturas ultra-baixas, a  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  em nitrogênio líquido, ou em seu vapor, em torno de  $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Esta técnica de conservação foi possível graças à descoberta da liquefação do oxigênio que permitiu, há mais de 100 anos, os primeiros passos em prol do desenvolvimento da criogenia.

De modo geral, a crioconservação tem sido aplicada às sementes de numerosas espécies; na maioria dos casos, a secagem das sementes engloba o tratamento prévio e protetor frente ao congelamento, a secagem reduz suficientemente a água disponível, não permitindo a formação de grandes cristais de gelo mas muitos pesquisadores sabem que algumas sementes não podem ser secadas e, também, que é difícil reduzir o conteúdo de água de explantes vegetativos sem danificá-los (ALMEIDA, 2006).

Segundo DINIZ et al. (1999) a maioria das sementes é tolerante à dessecação na maturidade; contudo, existe um grupo de sementes que não tolera o frio e perde sua viabilidade quando secas; essas sementes são denominadas “recalcitrantes”, e está incluída neste grupo a grande maioria das espécies florestais. Essas sementes podem apresentar baixa ou alta recalcitrância; as de alta recalcitrância apresentam tolerância à retirada de poucos pontos percentuais de água e muita sensibilidade a baixas temperaturas enquanto as de baixa recalcitrância toleram a retirada de elevados pontos percentuais de água e apresentam reduzida sensibilidade a baixas temperaturas e baixa germinação, quando umedecidas (CASTRO et al., 2004).

As sementes denominadas intermediárias, suportam desidratação a conteúdo muito baixo de teor de umidade, permanecendo longevas mas são comumente sensíveis a baixas temperaturas e a danos de embebição durante o armazenamento (CASTRO et al., 2004).

Segundo VILLELA & PERES (2004), as sementes ortodoxas podem ser secas até teor de umidade de 5 a 7% e armazenadas sob baixas temperaturas, as quais são resistentes às adversidades no período de latência e, em condições adequadas, germinam, podendo-se dizer que, em geral, as sementes ortodoxas podem ser crioconservadas.

Além do processo de crioconservação o processo de descongelamento deve ser levado em consideração (PITA VILLAMIL, 1997). De modo que este processo exerce grande influência na germinação e no vigor das sementes (DINIZ et al., 1999), quanto mais rápido o descongelamento, melhor preserva as qualidades fisiológicas (MOLINA et al., 2006), se bem que existem dados contraditórios; não obstante, em estudos com *Ricinus communis* e *Sesamum indicum* tem-se constatado claramente o efeito da velocidade de congelamento sobre a viabilidade de suas sementes.

As mudanças externas de temperatura podem produzir danos físicos às sementes impedindo, às vezes, não apenas mas, também, o desenvolvimento normal das plântulas; fato que ocorre sobretudo em sementes grandes, como as de *Sesamum indicum*, *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* em que se produz o desprendimento dos cotilédones. O controle a esse tipo de dano vem sendo feito transferindo-se as sementes imersas no nitrogênio líquido (-196 °C) a fase de suspensão ao nitrogênio líquido (-150 °C) antes do total descongelamento a temperatura ambiente (ALMEIDA, 2006).

JERÔNIMO (2005) determinou que para as sementes de amendoim (*Arachis hypogaea*) a umidade ideal de crioarmazenagem é de 9 a 13% b.u.

ALMEIDA et al. (2000) estudando o efeito da crioconservação sobre 10 espécies de leguminosas, detectaram que a maior parte das espécies não apresentou alteração na viabilidade das sementes imersas no nitrogênio; não obstante, em algumas amostras ocorreu uma perda de viabilidade, atribuída ao danos físicos sofridos pelas sementes.

LACERDA et al. (2002) comparando a crioarmazenagem de sementes de pau-ferro com as técnicas convencionais de armazenagem (câmara seca e condições ambientais), verificaram que sua qualidade fisiológica é preservada sob condições ambientais e crioarmazenadas por 105 dias, enquanto as armazenadas em câmara seca diminuíram significativamente sua qualidade fisiológica.

ALMEIDA et al. (2002) estudando a crioconservação de sementes de mamona das variedades nordestina e pernambucana, observaram que as sementes de ambas as

variedades podem ser crioconservadas com a umidade de colheita de 6% b.u, tanto no vapor (-176 °C) como na imersão (-196 °C) em nitrogênio líquido.

Da mesma forma, GONZAGA et al. (2003) estudando a crioconservação de sementes de aroeira e baraúna, verificaram que essas podem ser crioconservadas tanto no nitrogênio líquido como na forma de vapor e para as sementes de baraúna o processo favoreceu a quebra de dormência pela ação do frio nessas sementes.

DINIZ et al. (1999) avaliando a influência das técnicas de descongelamento (temperatura ambiente, banho termostatizado a 40 °C e micro-ondas na qualidade fisiológica de sementes de milho crioconservadas, notaram que os métodos de descongelamento das sementes diferem entre si de maneira genérica e afetam sua germinação e vigor.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Local de realização dos experimentos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola (UAEA) do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais (CTRN), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e no Laboratório de Química da Embrapa Algodão, em Campina Grande, Paraíba, durante o período de julho de 2007 a fevereiro de 2009.

#### 3.2 Origem das sementes e dos frutos

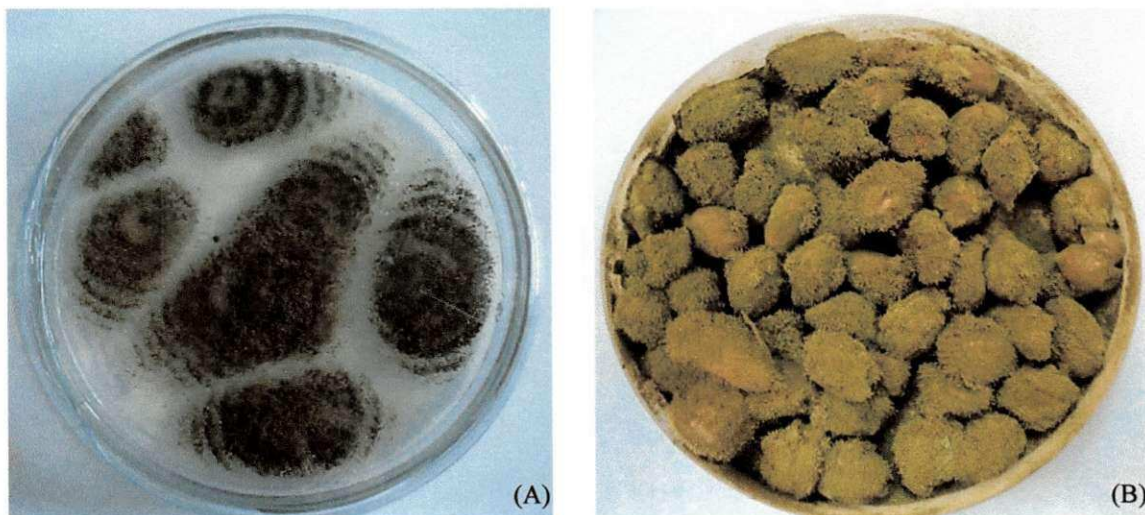
Para a realização dos experimentos utilizaram-se sementes de amendoim das cultivares BRS Havana e BR 1. As sementes da cv. BRS Havana foram adquiridas de um produtor que compõe parte de um projeto de produção integrada junto à Embrapa Algodão Campo Experimental de Barbalha, no Distrito Missão Nova, Município Missão Velha, CE, e as sementes da cv. BR 1 provenieram de campos de produção de sementes localizado na cidade de Patos, PB, da Embrapa Algodão, Campina Grande, PB.

#### 3.3 Isolamento e desenvolvimento do fungo

Em cada lote de amendoim foi avaliada a microbiótica fúngica presente, pela amostragem de 40 sementes, através da metodologia do papel de filtro umedecido (NEERGAARD, 1979). Dez sementes foram distribuídas em placas de Petri, contendo três discos de papel de filtro ( $\varnothing = 9,5$  cm) umedecidos com água destilada e esterilizados; depois, deixadas em prateleiras em ambiente não controlado do LAPPA, durante oito dias. Transcorrido este período, as sementes contidas nas placas foram examinadas individualmente em microscópio estereoscópico para a visualização das colônias dos fungos presentes. Considerando-se as características das colônias nas sementes de amendoim, procedeu-se ao isolamento do *Aspergillus flavus*, retirando-se fragmentos micelianos (2 mm de diâmetro), das margens das colônias e os inoculando em meio de cultura BDA (composto de 200 g de batata; 20 g de dextrose; 20 g de Ágar-ágar e 1000 mL de água destilada) esterilizado em autoclave a 121 °C, durante 30 min, contido em placas

de Petri. A partir das colônias formadas observaram-se as de *A. flavus* que se desenvolveram sem contaminação (Figura 3.1 A), retirando-se fragmentos miceliano e inoculando no centro de placas de Petri contendo meio de cultura Czapek, utilizado como meio de cultura padrão para se observar as características das culturas de fungos do gênero *A. flavus* e *Penicillium*, como forma, cor e produção de pigmento.

Deste modo as espécies de *A. flavus* devidamente identificadas foram cultivadas em meio de cultura BDA contido em tubos de ensaio produzindo-se assim, o inóculo, que foi multiplicado em uma massa de sementes de amendoim previamente aquecida em estufa a 105 °C, por uma hora, e esfriada em temperatura ambiente. Os fungos foram inoculados, a massa de sementes contida em recipiente de vidro, agitando-se manualmente e em seguida distribuídas em placas de Petri contendo três discos de papel de filtro umedecidos com água destilada e esterilizados; depois deixados a temperatura ambiente e transferidos para uma nova massa de sementes de amendoim seguindo-se o mesmo procedimento, antes que houvesse o esgotamento total do substrato (Figura 3.1 B); essas sementes contaminadas foram utilizadas com inóculo para os experimentos descritos a seguir.



**Figura 3.1** Colônia de *Aspergillus flavus* (A) pura e (B) sementes inoculadas com *A. flavus*

### 3.4 Obtenção do extrato hidroalcoólico de sucupira

Onteve-se o extrato hidroalcoólico a partir de sementes de sucupira (*Pterodon emarginatus*), adquiridas em feira livre de produtos naturais, em Campina Grande, PB.

O material foi triturado em moinho de martelo, depois pesado em balança, em seguida umedecido com 250 mL de álcool etílico a 70% (v v<sup>-1</sup>) e finalmente colocado em



percolador para extração (Figura 3.2), conforme metodologia descrita por ALMEIDA (2003).

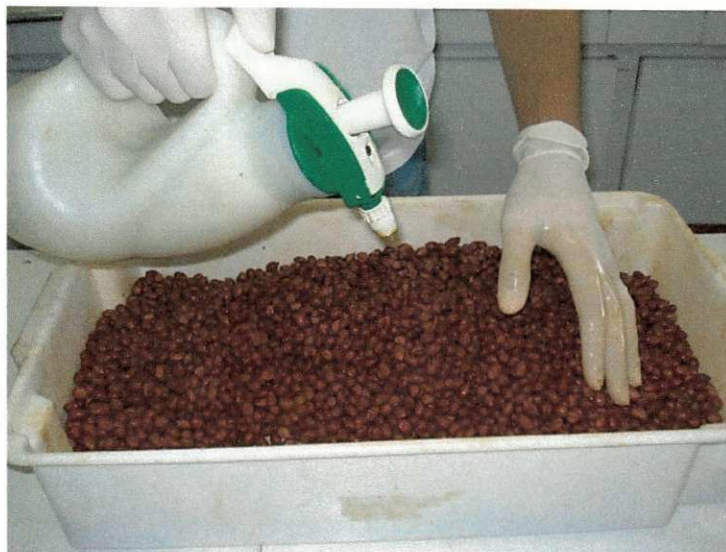


**Figura 3.2** Percolador de extração

### **3.5 Tratamento das sementes do amendoim**

Realizou-se o tratamento das sementes (Figura 3.3), utilizando-se 10 mL do extrato de sucupira para cada 300 g de sementes, nas doses de 0 (controle), 10, 40, 70 e 100 mL (proporção – extrato:água); em seguida, as sementes foram distribuídas sobre folhas de papel jornal, ficando por um período de 24 h a temperatura ambiente, com a finalidade de se retirar o excesso de extrato da superfície das sementes.

As sementes tratadas foram divididas em dois lotes: em um foi inoculado o *Aspergillus flavus*, utilizando-se 0,0632 g de inóculo para cada 300 g de sementes e o outro ficando apenas com o extrato aplicado. Ambos os lotes de sementes (inoculadas e não inoculadas) foram acondicionados em embalagens de algodão para, em seguida, serem armazenadas durante 12 meses para a cv. BRS Havana e 5 meses para a cv. BR 1 em condições de laboratório sem controle de temperatura e umidade relativa do ar (Figura 3.4).



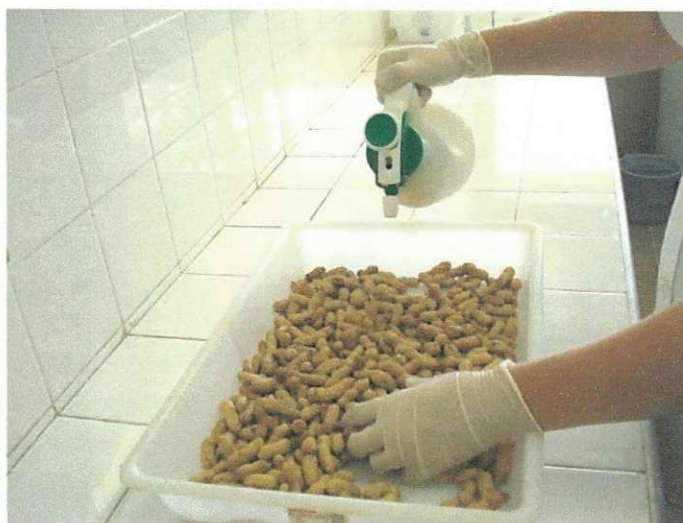
**Figura 3.3** Tratamento das sementes



**Figura 3.4** Armazenamento das sementes

### 3.6 Tratamento dos frutos do amendoim

Os frutos do amendoim (vagens) foram tratados através do mesmo procedimento aplicado às sementes com o mesmo extrato hidroalcoólico (Figura 3.5), modificando-se apenas a proporção (40 mL de extrato para cada 600 g de frutos), nas mesmas doses empregadas para o tratamento das sementes: 0 (controle), 10, 40, 70 e 100 mL (proporção – extrato:água), acondicionados igualmente em embalagens de algodão, por 12 (BRS Havana) e 6 (BR 1) meses, respectivamente, em condições de laboratório sem controle de temperatura e umidade relativa do ar.



**Figura 3.5** Tratamento dos frutos

### 3.7 Primeiro experimento

#### 3.7.1 Análises das sementes

Após tratadas e acondicionadas nas embalagens de algodão, as sementes da cv. BRS Havana foram avaliadas trimestralmente quanto ao teor de umidade (%), micoflora (%) e aflatoxina ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ).

##### 3.7.1.1 Teor de umidade

Determinou-se o teor de umidade das sementes pelo método padrão da estufa, a  $105 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , em que três sub-amostras de 10 g das sementes foram colocadas em recipientes metálicos (cadinhos) previamente secos e pesados; posteriormente, estes foram levados à estufa, onde permaneceram 24 h; decorrido este período, foram retirados e esfriados em dessecador, durante uma hora, onde se obteve o peso final dos recipientes mais a amostra seca. Os resultados foram expressos em porcentagem de peso em base úmida, mediante a equação 1 (BRASIL, 1992):

$$\% \text{ umidade} = \frac{(P - p)}{P - t} \times 100 \quad (1)$$

em que:

P – peso inicial (peso do recipiente + peso da semente úmida), g

p – peso final (peso do recipiente + peso da semente seca), g

t – tara (peso do recipiente), g

### 3.7.1.2 Determinação e avaliação da micoflora

Na determinação da micoflora utilizou-se o método do papel de filtro ou “blotter-test” (NEERGAARD, 1979). Dez sementes foram distribuídas em placas de Petri, contendo dois discos de papel de filtro ( $\varnothing = 9,5$  cm) esterilizados e umedecidos com água destilada esterilizada, utilizando-se 4 repetições por tratamento e deixadas em ambiente não controlado do LAPPA, durante oito dias (Figura 3.6). Transcorrido este período, as sementes contidas nas placas foram examinadas individualmente para visualização das colônias de fungos presentes e, quando necessário, uma confirmação da colônia presente, esta foi examinada no microscópio estereoscópico; desta forma, a quantificação foi efetuada considerando-se a porcentagem de sementes infectadas por fungos e o gênero presente.



**Figura 3.6** Determinação da micoflora

### 3.7.1.3 Determinação da aflatoxina

As amostras das sementes de amendoim para análise de aflatoxina se compuseram de 100 g de sementes, que foram trituradas em moinho de hélice, semelhante a multiprocessador e logo peneiradas em peneira de 14 “mesh”, para obtenção da textura

adequada requerida para realização do ensaio, utilizando-se 50 g de amostra para extração das aflatoxinas.

#### a) Preparo das soluções padrão

Adquiriram-se os padrões de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> no Laboratório SIGMA em forma de cristais. Para a preparação das soluções padrão utilizou-se a metodologia da AOAC (2005), em que cada padrão de aflatoxina foi diluído individualmente em metanol, originando a solução mãe, na concentração de 20 µg mL<sup>-1</sup>; depois, foram preparadas as soluções de trabalho com diferentes concentrações para serem utilizadas na triagem e quantificação das aflatoxinas. A concentração final das soluções padrão de aflatoxinas foi determinada através da leitura da absorbância com uso de um espectrofotômetro e calculadas mediante equação abaixo:

$$CA = \frac{A \times PM \times 1000}{\epsilon} \quad (2)$$

em que:

CA – concentração de aflatoxina, µg mL<sup>-1</sup>

A – absorbância

PM – peso molecular

□ - absortividade molar da aflatoxina

#### b) Extração e purificação das amostras

A extração e a purificação das amostras para determinação das aflatoxinas foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por SOARES & RODRIGUES-AMAYA, melhorada por QUEIROZ (1998).

Conforme o método, a extração das aflatoxinas (Figura 3.7) foi realizada com uso do metanol como solvente orgânico e solução aquosa de cloreto de potássio a 4%, agitando-se em liquidificador durante cinco minutos em baixa velocidade e logo efetuada a filtração em papel de filtro qualitativo.



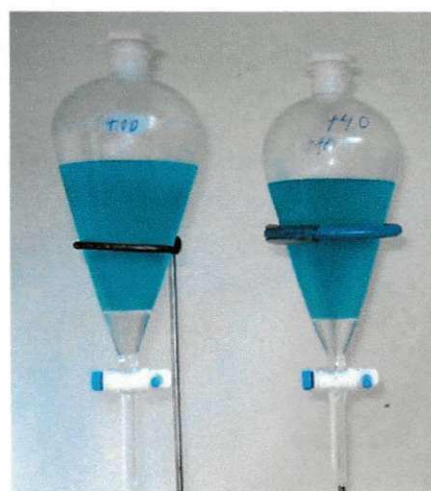
1ª Filtração



2ª Filtração



Desengorduramento (hexano)



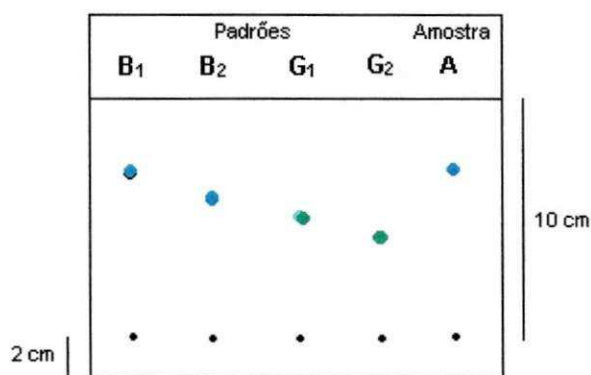
Fase clorofórmica

**Figura 3.7** Extração e purificação das amostras

O extrato obtido foi purificado com solução de sulfato cúprico a 10% e celite (agente filtrante), com a finalidade de se retirar todas as substâncias interferentes, como pigmentos. Na partição líquido-líquido utilizou-se o hexano como solvente orgânico, para o desengorduramento, e clorofórmio para extração das aflatoxinas; logo, o extrato foi evaporado em banho-maria a 60 °C e mantido sob refrigeração em freezer, até o momento da análise cromatográfica, quando o concentrado foi ressuspensionado em 500 µL de metanol e agitado manualmente, por 1 min.

**c) Identificação das aflatoxinas**

A triagem das aflatoxinas nas amostras foi realizada através da cromatografia em camada delgada (CCD), com uso de cromatofolhas de alumínio com 20 x 20 cm, espessura de 0,2 mm, da marca Merck (KIESEL GEL – 60/1.05553) e a mistura de tolueno, acetato de etila e ácido fórmico, nas proporções de 60:30:10, respectivamente, como sistema móvel. Foram aplicados 10 µL das amostras e 10 µL dos padrões B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, a 2 cm da base da placa e colocadas em cuba contendo a fase móvel; a eluição foi efetuada até 10 cm a partir do ponto de aplicação (Figura 3.8).



**Figura 3.8** Esquema representando uma placa unidimensional de CCD (cromatografia em camada delgada)

Fez-se a identificação das aflatoxinas através da comparação com Rfs, cor e intensidade de fluorescência das manchas correspondentes às amostras comparadas com as manchas dos padrões, com uso de câmara de luz ultravioleta com comprimento de ondas de 366 nm.

Para confirmação das amostras em que houve suspeita da presença de algum tipo de aflatoxina, realizou-se uma nova leitura, utilizando-se o sistema solvente clorofórmio – acetona (90:10) e, em seguida, submetidas novamente a leitura, em câmara de luz ultravioleta a 366 nm.

A quantificação das aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> foi realizada através da comparação visual da intensidade de fluorescência da mancha da amostra, com a fluorescência das manchas dos padrões aplicados na placa em concentrações crescentes, em alíquotas de 0,4, 0,6, 0,8, 1 e 2 µL. Repetições com novas alíquotas de padrões ou de amostras foram feitas

quando necessário, para obtenção de uma aproximação melhor da intensidade da fluorescência, entre a mancha suspeita e o padrão.

Determinou-se o cálculo da concentração de aflatoxinas mediante a equação 3:

$$\mu\text{g de toxina / kg de amostra} = \frac{S \times Y \times V}{W \times Z} \quad (3)$$

em que:

S – microlitros do padrão da toxina com fluorescência equivalente à da amostra;

Y – concentração do padrão,  $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ ;

V – volume final, em  $\mu\text{L}$ , do extrato da amostra, 500  $\mu\text{L}$

Z – microlitros aplicados do extrato final;

W – peso da amostra em gramas no extrato final, 8,35 g

#### d) Teste de recuperação da aflatoxina B<sub>1</sub>

O teste de recuperação consistiu em contaminar uma amostra de sementes de amendoim que não continha contaminação por aflatoxinas, mediante o seguinte procedimento: pesaram-se amostras de 50 g em três repetições e se acrescentou uma solução do padrão B<sub>1</sub> nos níveis de 7,8  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (para amostras inoculadas e não inoculadas e sem tratamento), 12,68  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (para amostras inoculadas e com diferentes concentrações do extrato), 17,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (para amostra sem inoculação e com diferentes concentrações de extrato). Após 24 horas procedeu-se à extração para verificar o percentual de aflatoxina B<sub>1</sub>, recuperada através da metodologia utilizada no experimento. A recuperação foi calculada pela relação entre a quantidade de toxina quantificada e a adicionada no início do procedimento analítico, executado de forma completa.

### 3.8 Segundo experimento

#### 3.8.1 Análises das sementes

Neste experimento, as sementes da cv. BR 1 foram, após tratadas e acondicionadas nas embalagens de algodão, avaliadas mesalmente quanto ao teor de umidade (%),



micoflora (%) conforme, descrito no primeiro experimento (Item 3.7) para a cv. Havana e a porcentagem de germinação (%) como a seguir:

### 3.8.1.1 Teste de germinação

O teste de germinação foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As sementes foram dispostas em folhas de papel germitest (duas na base e uma na cobertura) umedecidas com água destilada, na proporção de três vezes o peso do papel seco (Figura 3.9).



**Figura 3.9** Teste de germinação da cultivar BR 1

Em seguida organizados em forma de rolo, acondicionados em sacos de polietileno para evitar a perda de umidade e mantidos na posição de 45°C em relação à horizontal em B.O.D. (modelo 101/3) a temperatura de  $25 \pm 1$  °C e umidade relativa  $95 \pm 2\%$  (BRASIL, 1992). Foram consideradas germinadas as sementes que no 10º dia após a instalação do teste emitiram radícula superior a 2 cm obtendo-se assim, o percentual de plântulas germinadas.

## 3.9 Terceiro experimento

### 3.9.1 Crioconservação das sementes

As sementes de amendoim cv. BRS Havana, com teor de umidade de 4,93% b.u, foram acondicionadas na quantidade de 100 para as determinações de aflatoxina e 200 g

para as demais determinações em embalagens plásticas, as quais eram, em seguida, revestidas em folhas de papel alumínio e posteriormente colocadas em canister e logo armazenadas em botijões criogênicos contendo nitrogênio líquido a  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pelo período de 12 meses; a cada dois meses as sementes foram submetidas a descongelamento, a temperatura ambiente do LAPP (±25 °C) e em seguida realizados os testes de germinação (%), vigor (comprimento de plântulas e matéria seca), teor de umidade (%), micoflora (%) e aflatoxina (a cada três meses). Em comparação com as sementes crioconservadas, deixaram-se sementes acondicionadas em embalagens de algodão em condições naturais, avaliando-se as mesmas variáveis analisadas nas sementes crioconservadas.

### 3.9.2 Teste de germinação

Foi conduzido em condições ambientais do LAPP (sem controle de temperatura e umidade), utilizando-se 200 sementes por tratamento, distribuídas em quatro repetições de 50 sementes, as quais foram semeadas em bandejas plásticas contendo, como substrato, vermiculita, umedecido com água destilada com 70% de sua capacidade de retenção de água (Figura 3.10). A contagem foi efetuada no 10º dia após a semeadura, de acordo com os procedimentos contidos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), assim como para a avaliação de plântulas normais e anormais.



**Figura 3.10** Teste de germinação

### 3.9.3 Teste de vigor

O teste de vigor foi conduzido juntamente com o teste de germinação e analisados os seguintes parâmetros:

a) **Comprimento de plântulas:** no 10º dia após a semeadura as plântulas consideradas normais foram retiradas do substrato e medidas (hipocótilo + epicótilo) com auxílio de uma régua milimetrada. Os resultados da avaliação foram obtidos por meio do quociente entre o somatório das medidas das plântulas normais e o número de plântulas avaliadas, expresso em centímetros (NAKAGAWA, 1994).

b) **Matéria seca:** determinado o comprimento das plântulas, removeram-se os cotilédones, em que cada repetição do tratamento foi colocada em sacos de papel e levada à estufa termoelétrica, com circulação de ar a temperatura de  $70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por 72 h. Após esse tempo, as amostras foram retiradas da estufa e colocadas para esfriar em dessecador, durante 30 minutos. Cada repetição foi pesada em balança de precisão de 0,001 g (NAKAGAWA, 1994). Os resultados foram obtidos dividindo-se o peso da matéria seca total das plântulas pelo número de plântulas componentes, expresso em grama por plântula. Obteve-se o peso médio da matéria seca das plântulas pela média aritmética das repetições.

### 3.10 Análise estatística

Os dados obtidos foram avaliados através do Programa Computacional Assisat (SILVA & AZEVEDO, 2006) versão beta 7.4. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial com 4 repetições, conforme segue:

- a) Armazenamento de sementes para o primeiro experimento (2 x 5 x 5) e para o segundo experimento (2 x 5 x 6), representado por: sementes inoculadas e não inoculadas com o fungo (*Aspergillus flavus*); concentração do extrato de sucupira e período de armazenamento, respectivamente;
- b) Armazenamento de sementes para o primeiro experimento (2 x 5 x 5) e para o segundo experimento (2 x 5 x 6), representado por: sementes dentro e fora dos

frutos; concentração do extrato de sucupira e período de armazenamento, respectivamente;

- c) Terceiro experimento: 2 x 7 referente ao teor de umidade e incidência de fungos; 2 x 4, referente à germinação e vigor; 2 x 2 para aflatoxina, representando por: ambiente natural e nitrogênio líquido (-196 °C) e período de armazenamento.

As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade e, para o fator quantitativo (tempo) aplicou-se regressão na análise de variância.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Primeiro experimento – cv. BRS Havana

#### 4.1.1 Armazenamento das sementes inoculadas e não inoculadas com o *A. flavus*

##### 4.1.1.1 Teor de umidade

Os resultados da análise de variância do teor de umidade referente ao Procedimento, Doses do extrato e Tempo, para as sementes de amendoim armazenadas em embalagens de algodão durante 12 meses, se encontram na Tabela A1, na qual se observa efeito significativo para todos os fatores e suas interações duplas.

Na Tabela 4.1 são apresentadas as médias do teor de umidade para a interação Doses x Procedimento de sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcolico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com o *Aspergillus flavus*. Verifica-se que entre as doses do extrato utilizado no tratamento das sementes, o teor de umidade foi igual estatisticamente para todas as doses com o procedimento não inoculado (7,44%) exceto para D<sub>70</sub> que se igualou a D<sub>100</sub> e foi estatisticamente inferior ao das demais.

**Tabela 4.1** Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Doses x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcolico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| Doses (mL)       | Procedimento       |               |
|------------------|--------------------|---------------|
|                  | Não inoculado (NI) | Inoculado (I) |
| D <sub>0</sub>   | 7,43 aA            | 6,72 dB       |
| D <sub>10</sub>  | 7,40 aA            | 7,04 abB      |
| D <sub>40</sub>  | 7,54 aA            | 7,18 aB       |
| D <sub>70</sub>  | 7,25 bA            | 6,93 bcB      |
| D <sub>100</sub> | 7,39 abA           | 6,85 cdB      |
| DMS (C)          | 0,15               |               |
| DMS (L)          | 0,11               |               |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Para o procedimento inoculado (I) as sementes tratadas nas doses D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub> mL armazenaram o amendoim com maior teor de umidade (7,11%) seguido das doses de D<sub>70</sub>, D<sub>100</sub> e D<sub>0</sub>. Entre os procedimentos, o NI com o fungo *Aspergillus flavus* armazenou as sementes, em todas as doses utilizadas no estudo, com teor de umidade superior estatisticamente ao procedimento das sementes que receberam o fungo *A. flavus*

O comportamento do teor de umidade das sementes de amendoim para procedimento se deve, provavelmente, à maior população dos fungos na massa de sementes inoculada com o *A. flavus* que, para o exercício de suas funções vitais, se utilizaram deste nutriente, afirmativa que pode ser evidenciada com os resultados obtidos para incidência de *A. flavus* (Tabela 4.4), em que estes indicam que os fungos devem ter-se utilizado da água livre, presente nas sementes, para exercerem suas atividades essenciais, resultando no procedimento inoculado com teor de umidade inferior ao do não inoculado.

Para a interação Tempo x Procedimento (Tabela 4.2) tem-se, para o procedimento NI em T<sub>9</sub>, o maior teor de umidade das sementes (8,30%), o qual foi estatisticamente superior a todos os demais que se comportaram de forma diferente estatisticamente sendo T<sub>0</sub> > T<sub>6</sub> > T<sub>3</sub> > T<sub>12</sub>. Com relação ao procedimento I ao longo do armazenamento a estatística detectou igualdade para T<sub>3</sub>, T<sub>6</sub> e T<sub>12</sub>, que foram superadas por T<sub>0</sub> e T<sub>9</sub> o qual foi inferior a T<sub>0</sub>. Entre os procedimentos à exceção de T<sub>0</sub>, em que não se registraram diferenças estatísticas, e do T<sub>12</sub>, em que foi superior no inoculado, o teor de umidade das sementes de amendoim foi estatisticamente inferior no procedimento I frente ao NI.

**Tabela 4.2** Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Tempo x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| Tempo (meses)   | Procedimento       |               |
|-----------------|--------------------|---------------|
|                 | Não inoculado (NI) | Inoculado (I) |
| T <sub>0</sub>  | 8,13 bA            | 8,13 aA       |
| T <sub>3</sub>  | 6,67 dA            | 6,21 cB       |
| T <sub>6</sub>  | 7,86 cA            | 6,15 cB       |
| T <sub>9</sub>  | 8,30 aA            | 7,95 bB       |
| T <sub>12</sub> | 6,04 eB            | 6,28cA        |
| DMS (C)         | 0,15               |               |
| DMS (L)         | 0,11               |               |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

O comportamento do teor de umidade das sementes de amendoim para a interação Tempo x Procedimento ao longo do armazenamento e para as condições a que foram submetidas, se deve à embalagem permeável à qual foram acondicionadas (saco de algodão) que permite a troca de umidade com a atmosfera do ambiente de armazenamento, oscilando com a variação desta atmosfera, isto é, tal oscilação é devida às variações climáticas ocorridas durante a realização do experimento que tem influência sobre as sementes armazenadas em embalagens permeáveis.

DINIZ et al. (2001) também constataram, estudando o acondicionamento de sementes de amendoim em embalagens de papel e metálica, influência das condições ambientais na umidade das sementes as quais, quando foram armazenadas em embalagem metálica, permitiram uma uniformidade maior do teor de umidade das sementes, até os 12 meses de armazenamento, por se tratar de uma embalagem impermeável, enquanto nas armazenadas em embalagem de papel houve variações no teor de umidade com o tempo.

Igualmente, ALMEIDA et al. (1999) verificaram que a embalagem e as condições de umidade relativa do ar e temperatura de locais de armazenamento exercem influência sobre o teor de umidade das sementes.

Analisando-se a Tabela 4.3 verifica-se, para os tempos dentro de cada dose, que em T<sub>3</sub> e T<sub>12</sub> não foi registrada variação estatística no teor de umidade entre as doses; já para o T<sub>0</sub>, as doses D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub>, apresentaram igualdade estatística, diferindo das demais, sendo D<sub>40</sub> a dose que apresentou maior teor de umidade (8,99%).

**Tabela 4.3** Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Doses x Tempo das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| Doses<br>(mL)    | Tempo (meses)  |                |                |                |                 |
|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
|                  | T <sub>0</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>6</sub> | T <sub>9</sub> | T <sub>12</sub> |
| D <sub>0</sub>   | 7,05 dB        | 6,49 aC        | 7,22 aB        | 8,33 aA        | 6,28 aC         |
| D <sub>10</sub>  | 8,50 bA        | 6,43 aD        | 6,96 bC        | 8,08 bB        | 6,15 aE         |
| D <sub>40</sub>  | 8,99 aA        | 6,43 aD        | 7,24 aC        | 8,08 bB        | 6,06 aE         |
| D <sub>70</sub>  | 8,12 cA        | 6,42 aC        | 6,80 bB        | 8,04 bA        | 6,07 aD         |
| D <sub>100</sub> | 8,01 cA        | 6,45 aC        | 6,83 bB        | 8,10 abA       | 6,23 aC         |
| DMS (C)          | 0,24           |                |                |                |                 |
| DMS (L)          | 0,24           |                |                |                |                 |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

No T<sub>6</sub>, as doses D<sub>0</sub> e D<sub>40</sub> (7,23%) foram estatisticamente iguais e superiores às demais doses que obtiveram igualdade estatística (D<sub>10</sub> = D<sub>70</sub> = D<sub>100</sub> = 6,86%). Para T<sub>9</sub>, ocorreu igualdade estatística entre D<sub>10</sub>, D<sub>40</sub> e D<sub>70</sub>, as quais diferiram de D<sub>0</sub> e D<sub>100</sub>, que foi estatisticamente igual às demais doses.

Com relação ao fator tempo, observam-se variações em todas as doses do extrato aplicadas conforme o tempo de armazenamento. Essas variações do teor de umidade quanto às doses de extrato aplicado e o tempo de armazenamento podem, mais uma vez, ser evidenciadas devido ao acondicionamento das sementes em embalagens de algodão, permitindo sua troca de umidade com a umidade atmosférica do ambiente, dados que corroboram com SANTOS (2003), ao observar variações no teor de umidade de sementes de milho tratadas com extratos vegetais ao longo do armazenamento.

#### 4.1.1.2 Incidência de fungos

Os resultados da análise de variância da incidência de fungos indicam efeito significativo de todos os fatores e suas interações duplas, exceto para o fungo *Penicillium*, em que se detectou significância apenas para a interação Tempo x Doses (Tabelas A2; A3; A4 e A5).

Os valores médios da incidência de fungos presentes nas sementes de amendoim armazenadas ao longo de um ano para a interação Doses x Procedimento (Tabela 4.4) revelaram, para procedimento dentro de cada dose, superioridade estatística para as sementes inoculadas com o *Aspergillus flavus* frente ao procedimento NI e o contrário se deu com o comportamento dos fungos *A. niger* e *Rhizopus*, isto é, o procedimento NI foi estatisticamente superior ao I, para todas as doses.

Dentro de cada dose a incidência de *A. flavus* no procedimento inoculado (I) não apresentou diferença estatística, enquanto no procedimento NI a menor ocorrência desse fungo foi encontrada em D<sub>70</sub> (41,50%) e a maior em D<sub>0</sub> e D<sub>10</sub> (81,50 e 70,00% respectivamente); comportamento estatístico igual se verificou para o *A. niger* no procedimento I; em NI, a menor ocorrência de *A. niger* se deu em D<sub>0</sub> (17,54%), seguido de D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub> (23,02%) com igualdade estatística e a maior ocorrência em D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub> (31,52%), também com igualdade estatística. Com relação ao *Rhizopus*, a maior incidência para o procedimento NI foi constatado na dose D<sub>0</sub> (74,01%) e a menor em



D<sub>100</sub> (24,53%), seguida das demais doses (D<sub>0</sub> = D<sub>40</sub> = D<sub>70</sub>) que, estatisticamente, não diferiram; comportamento semelhante se obteve para D<sub>0</sub> no procedimento I e D<sub>100</sub>, que estatisticamente foi igual a D<sub>40</sub>, D<sub>70</sub> e D<sub>10</sub>.

**Tabela 4.4** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratada com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| Doses<br>(mL)    | Procedimento     |          |                 |         |                 |          |   |  |
|------------------|------------------|----------|-----------------|---------|-----------------|----------|---|--|
|                  | NI               |          | I               |         | NI              |          | I |  |
|                  | <i>A. flavus</i> |          | <i>A. niger</i> |         | <i>Rhizopus</i> |          |   |  |
| D <sub>0</sub>   | 81,50 aA         | 79,50 aA | 17,54 cA        | 2,08 aB | 74,01 aA        | 28,52 aB |   |  |
| D <sub>10</sub>  | 70,00 bB         | 80,50 aA | 30,52 aA        | 2,08 aB | 31,01 bA        | 5,55 bB  |   |  |
| D <sub>40</sub>  | 56,00 cB         | 82,50 aA | 32,52 aA        | 4,06 aB | 33,51 bA        | 1,09 cB  |   |  |
| D <sub>70</sub>  | 41,50 dB         | 83,00 aA | 22,52 bA        | 2,08 aB | 30,01 bA        | 1,09 cB  |   |  |
| D <sub>100</sub> | 58,50 cB         | 82,00 aA | 23,52 bA        | 2,08 aB | 24,53 cA        | 4,56 bcB |   |  |
| DMS (C)          | 3,74             |          | 2,91            |         | 4,42            |          |   |  |
| DMS (L)          | 2,67             |          | 2,08            |         | 3,16            |          |   |  |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; NI: não inoculado; I: inoculado

A análise geral dos dados evidencia, para o período de armazenamento (12 meses) das sementes de amendoim tratadas com o extrato hidroalcoólico de sucupira, que as maiores doses utilizadas no procedimento NI contribuíram para a redução de incidência dos fungos estudados e para o *Rhizopus* no procedimento I. A superioridade da incidência de *A. flavus*, principalmente no procedimento I se deve, provavelmente, a uma competição antagonica que ocorre com o *A. flavus* frente ao *A. niger* e *Rhizopus*.

Esta competição intraespecífica dos fungos por substrato pode ocorrer de forma ativa, quando há inibição por contato entre os fungos, na alteração do substrato, ou quando existe parasitismo fúngico ou, de forma passiva, no qual não se dá inibição de um fungo pelo outro porém existe uma competição por espaço ou por nutrientes essenciais. Sendo assim, houve vantagem do *Aspergillus flavus* sobre os demais fungos, competindo por espaço ou nutrientes. Essas considerações estão de acordo com NAKAI (2006) que trabalhou com a distribuição de fungos e aflatoxinas em variedade de amendoim armazenado, verificando que a influência mútua entre os fungos pode ocorrer de modo antagonico.

Segundo BARRETO (2001) os fungos do gênero *Rhizopus* têm pouca importância quanto a sua incidência em sementes porém se as sementes apresentarem contaminação elevada com este patógeno, elas deverão ser desinfestadas.

VIEGAS et al. (2005) verificaram efeito inibitório no desenvolvimento micelial de *A. flavus* com emprego de óleos essenciais de búbilho de alho e da casca de canela e BARRETO et al. (2003) os quais também verificaram que o uso do extrato de *Agave sisalana*, controlou os fungos *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp., em torno de 47,20 e 39,53%, respectivamente, em sementes de algodoeiro.

Para a interação Tempo x Procedimento da incidência de fungos (Tabela 4.5) tem-se, para o procedimento dentro de cada tempo, superioridade estatística para as sementes inoculadas I frente às NI da incidência de *A. flavus*, à exceção do T<sub>0</sub> que foram estatisticamente iguais em ambos os procedimentos. O contrário se deu para o comportamento do *A. niger* e *Rhizopus*, isto é, o procedimento NI foi estatisticamente superior ao procedimento I para todos os tempos, à exceção do T<sub>0</sub>, que revelou igualdade estatística para os fungos do gênero *Rhizopus* e o procedimento I foi estatisticamente superior ao NI para o *A. niger*.

**Tabela 4.5** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Tempo x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* durante 12 meses de armazenamento

| Tempo (meses)   | Procedimento     |           |                 |          |                 |          |   |  |
|-----------------|------------------|-----------|-----------------|----------|-----------------|----------|---|--|
|                 | NI               |           | I               |          | NI              |          | I |  |
|                 | <i>A. flavus</i> |           | <i>A. niger</i> |          | <i>Rhizopus</i> |          |   |  |
| T <sub>0</sub>  | 15,00 eA         | 15,00 cA  | 0,00 dB         | 10,00 aA | 5,05 dA         | 5,05 cA  |   |  |
| T <sub>3</sub>  | 52,50 dB         | 95,00 bA  | 27,00 bA        | 0,00 bB  | 41,52 cA        | 3,07 cB  |   |  |
| T <sub>6</sub>  | 63,00 cB         | 98,50 abA | 23,52cA         | 0,00 bB  | 47,50 bA        | 10,54 bB |   |  |
| T <sub>9</sub>  | 83,00 bB         | 100,00 aA | 26,00 bA        | 1,09 dB  | 52,00 aA        | 5,07 cB  |   |  |
| T <sub>12</sub> | 94,00 aB         | 99,00 aA  | 50,00 aA        | 4,07 cdB | 47,00 bA        | 17,08 aB |   |  |
| DMS (C)         | 3,74             |           | 3,87            |          | 4,42            |          |   |  |
| DMS (L)         | 2,67             |           | 2,77            |          | 3,16            |          |   |  |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; NI: não inoculado; I: inoculado

Analisando o fator tempo, a maior incidência de *A. flavus* no procedimento I ocorreu em T<sub>9</sub> (100,00%) que foi estatisticamente igual a T<sub>9</sub> e T<sub>6</sub> = T<sub>3</sub>, com menor ocorrência no período de caracterização (T<sub>0</sub> = 15,00%), enquanto no procedimento NI a incidência foi aumentando com o avanço do tempo de armazenagem, os quais foram

estatisticamente diferentes entre si. O *A. niger*, assim como o *Rhizopus*, se comportou de modo diferente visto que, no procedimento NI, a maior incidência do *A. niger* ocorreu no T<sub>12</sub> (50,00%) e a menor em T<sub>0</sub>, seguida de T<sub>3</sub> que, estatisticamente, não diferiu de T<sub>9</sub>, sendo este superior a T<sub>6</sub>. No procedimento I houve maior ocorrência desse fungo em T<sub>0</sub> (10,00%), seguido de T<sub>12</sub>, que foi estatisticamente igual T<sub>9</sub>, e superior a T<sub>3</sub> e T<sub>6</sub>, períodos em que ocorreu menor incidência. Com relação ao *Rhizopus*, no procedimento NI a maior ocorrência foi verificada no T<sub>9</sub> (52,00%) e a menor em T<sub>0</sub> (5,05%). Igual comportamento se obteve no T<sub>0</sub> para o procedimento I sendo este estatisticamente igual ao T<sub>3</sub> e T<sub>9</sub>, e inferior ao T<sub>6</sub> e T<sub>12</sub>, que foi o período de maior ocorrência desses fungos nas sementes armazenadas para este procedimento.

De modo geral, evidencia-se que a incidência de fungos nas sementes de amendoim tratadas com o extrato hidroalcoólico de sucupira, aumenta com o passar do tempo de armazenamento, quer seja no procedimento I ou no NI, à exceção do *A. flavus*, que se comportou diferentemente dos demais fungos. Esses dados diferem em parte dos obtidos por DINIZ et al. (2001) que verificaram redução na incidência de *A. niger* ao longo do armazenamento em todos os tratamentos e embalagens, porém menor incidência de *A. flavus* nas sementes tratadas com fungicida.

Mediante os dados contidos na Tabela 4.6 para a interação Doses x Tempo, observa-se incidência de fungos em cada tempo para todas as doses, e que o *A. flavus* no T<sub>0</sub> foi estatisticamente igual para todas as doses, visto ser um período de caracterização. No T<sub>3</sub> houve maior controle nas doses D<sub>40</sub> e D<sub>70</sub>, as quais foram estatisticamente iguais, seguidas de D<sub>10</sub> e D<sub>100</sub> que também obtiveram igualdade estatística, superando a incidência das sementes que não receberam tratamento (D<sub>0</sub>). Comportamento similar ocorreu no T<sub>6</sub>; contudo, a dose de maior controle foi a D<sub>70</sub> diferindo estatisticamente das demais doses, sendo que D<sub>100</sub> e D<sub>10</sub> obtiveram igualdade estatística, diferindo de D<sub>40</sub> e D<sub>0</sub>. Para T<sub>9</sub>, o maior controle se deu também na D<sub>70</sub>, seguida da D<sub>100</sub> e das demais doses (D<sub>40</sub> = D<sub>10</sub> = D<sub>0</sub>) que estatisticamente não diferiram. Aos 12 meses de armazenamento constatou-se diferença estatística em D<sub>100</sub> superando as demais doses (D<sub>0</sub>, D<sub>10</sub>, D<sub>40</sub> e D<sub>70</sub>) no controle do *A. flavus*.

Em análise ao efeito de cada dose em função do tempo, tem-se para todos os fungos aumento da incidência com relação à testemunha a medida em que aumentou o tempo de armazenamento, quando então se obteve, para o *A. flavus*, um controle melhor com a dose D<sub>70</sub> (T<sub>0</sub> > T<sub>3</sub> > T<sub>6</sub> > T<sub>9</sub> > T<sub>12</sub>), seguida de D<sub>40</sub>, que apresentou o mesmo

comportamento de D<sub>70</sub>, exceto em T<sub>9</sub> e T<sub>12</sub>, que não registrou diferença estatística na incidência do *A. flavus*; comportamento similar ocorreu para o *A. niger* e o *Rhizopus*, enquanto a incidência de *Penicillium* somente se deu em T<sub>12</sub>.

**Tabela 4.6** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Tempo de sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| Doses<br>(mL)      | Tempo (meses)  |                |                |                |                 |
|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
|                    | T <sub>0</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>6</sub> | T <sub>9</sub> | T <sub>12</sub> |
| <i>A. flavus</i>   |                |                |                |                |                 |
| D <sub>0</sub>     | 15,00 aC       | 92,50 aB       | 96,25 aAB      | 98,75 aA       | 100,00 aA       |
| D <sub>10</sub>    | 15,00 aD       | 77,50 bC       | 86,25 bB       | 100,00 aA      | 97,50 aA        |
| D <sub>40</sub>    | 15,00 aD       | 61,25 cC       | 72,50 cB       | 98,75 aA       | 98,75 aA        |
| D <sub>70</sub>    | 15,00 aE       | 58,75 cD       | 65,00 dC       | 75,00 cB       | 97,50 aA        |
| D <sub>100</sub>   | 15,00 aC       | 78,75 bB       | 83,75 bAB      | 85,00 bA       | 88,75 bA        |
| DMS (C)            | 5,91           |                |                |                |                 |
| DMS (L)            | 5,91           |                |                |                |                 |
| <i>A. Niger</i>    |                |                |                |                |                 |
| D <sub>0</sub>     | 5,05 aB        | 16,3 aA        | 0,00 dC        | 7,55 cB        | 20,05 cA        |
| D <sub>10</sub>    | 5,05 aC        | 17,55 aAB      | 21,30 aA       | 21,30 aA       | 16,30 cB        |
| D <sub>40</sub>    | 5,05 aC        | 17,55 aB       | 15,05 bB       | 16,30 bB       | 37,50 aA        |
| D <sub>70</sub>    | 5,05 aC        | 10,05 bB       | 10,05 cB       | 8,80 cBC       | 27,55 bA        |
| D <sub>100</sub>   | 5,05 aC        | 6,30 bC        | 12,55 bcB      | 11,30 cB       | 28,80 bA        |
| DMS (C)            | 4,61           |                |                |                |                 |
| DMS (L)            | 4,61           |                |                |                |                 |
| <i>Rhizopus</i>    |                |                |                |                |                 |
| D <sub>0</sub>     | 5,05 aD        | 42,50 aC       | 57,50 aB       | 60,00 aB       | 91,25 aA        |
| D <sub>10</sub>    | 5,05 aB        | 23,77 bA       | 28,75 bA       | 23,78 bA       | 10,05 dB        |
| D <sub>40</sub>    | 5,05 aC        | 23,80 bA       | 17,55 cAB      | 16,30 cB       | 23,80 bA        |
| D <sub>70</sub>    | 5,05 aB        | 18,80 bA       | 18,80 cA       | 20,05 bcA      | 15,05 cdA       |
| D <sub>100</sub>   | 5,05 aB        | 2,57 cB        | 22,50 bcA      | 22,55 bcA      | 20,05 bcA       |
| DMS (C)            | 6,99           |                |                |                |                 |
| DMS (L)            | 6,99           |                |                |                |                 |
| <i>Penicillium</i> |                |                |                |                |                 |
| D <sub>0</sub>     | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 32,50 aA        |
| D <sub>10</sub>    | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 32,50 aA        |
| D <sub>40</sub>    | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 25,00 bA        |
| D <sub>70</sub>    | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 22,50 bA        |
| D <sub>100</sub>   | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 25,00 bA        |
| DMS (C)            | 4,70           |                |                |                |                 |
| DMS (L)            | 4,74           |                |                |                |                 |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Este comportamento é característico dos fungos de armazenamento que, ao encontrarem condições favoráveis de substrato, temperatura e umidade, se multiplicam, aumentando a incidência na massa de semente armazenada.

Em síntese aos resultados da Tabela 4.6, a dose D<sub>70</sub> mostrou-se mais eficiente ao controle de fungos; contudo, houve um crescimento da infestação com o avanço do tempo de armazenamento, fato que se deve, provavelmente, aos princípios ativos das plantas que têm, como função principal, atuar como meio de defesa contra fatores externos; no entanto, seu potencial de ação nas plantas pode variar de acordo com a espécie vegetal, condições de solo e clima durante seu desenvolvimento e, até mesmo, com a metodologia utilizada para sua extração, podendo resultar em diferentes reações aos extratos aplicados, como em suas doses e, também, durante o tempo de armazenamento pode ocorrer redução da sua eficiência no controle de fungos, principalmente pela diminuição da ação dos princípios ativos contidos no extrato vegetal alterando, provavelmente, o comportamento desses fungos e até favorecendo o desenvolvimento de estruturas de resistência, como os esporos. Esta afirmação encontra apoio, em parte, no trabalho de RIBEIRO & BEDENDO (1999), ao demonstrarem que a concentração de extratos tem efeito sobre a inibição ou não de fungos, verificando que o extrato de alho inibiu o crescimento micelial de fungos, em porcentagens variáveis de 5,3 a 67,6%, porém não atuou de modo expressivo sobre a produção de conídios. Em contraposição, os extratos de hortelã, mamona e pimenta, promoveram inibição menos acentuada do crescimento de micélio, porém reduziram drasticamente a produção de conídios em níveis variáveis de 41 a 84%, de acordo com as concentrações crescentes dos mesmos, e MIETH et al. (2007) estudando a aplicação de extratos de hortelã no controle da micoflora de sementes de cedro, verificaram que, ao se aplicar o extrato de hortelã em pó na concentração de 30%, houve inibição do crescimento das espécies de fungos *Aspergillus* spp. e, para o mesmo extrato, porém destilado a inibição foi observada na concentração de 20 e 30%, mas o extrato não foi eficiente por favorecer a incidência de *Rhizopus* spp.

#### 4.1.1.3 Determinação de aflatoxinas

Durante o armazenamento não foi detectada positividade para os tipos de aflatoxinas (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>) nas amostras de sementes de amendoim para procedimento inoculado (I) e não inoculado (NI).

O fato das sementes de amendoim não apresentarem aflatoxinas durante seu armazenamento, principalmente nas sementes que foram inoculadas como o *A. flavus* se deve, provavelmente, às condições desfavoráveis que os fungos encontraram, especialmente o baixo teor de umidade das sementes durante o armazenamento, quando se registraram menores valores do teor de umidade para o procedimento inoculado (Tabela 4.1 e 4.2). COSTA (2007), afirma, em seu estudo com sementes de amendoim armazenadas durante 180 dias, que não se verificou a presença de aflatoxina e que o fungo *Aspergillus flavus* necessita de ambiente e tempo adequado para se desenvolver e produzir micotoxinas. FONSECA (2009) afirma que abaixo de 11% de umidade não há condição suficiente para o fungo toxigênico *Aspergillus flavus* se desenvolver. Desta forma, a presença do fungo no alimento não implica, obrigatoriamente, em produção de micotoxinas, assim como a toxina pode estar presente no alimento mesmo na ausência do fungo.

##### a) Teste de repetibilidade

O teste de repetibilidade utilizado para avaliar a precisão da metodologia de extração das aflatoxinas, consiste em contaminar réplicas de uma amostra isenta de aflatoxina e, em seguida passá-las pelo processo de extração e quantificação.

Na Tabela 4.7 se encontram os resultados obtidos do teste de repetibilidade para amostras de amendoim isentas de aflatoxinas e sem tratamento com extrato de sucupira, observando-se que o valor médio recuperado da concentração de 7,8 µg kg<sup>-1</sup> de aflatoxina B<sub>1</sub> foi de 7,7±1,02 µg kg<sup>-1</sup>, resultando em 98,72% de recuperação, com o coeficiente de variação de 13,19%. Segundo SOARES (1987), o coeficiente de variação do método trabalhado é considerado aceitável, para o caso de micotoxinas contaminadas, quando este varia entre 0 a 27%; portanto, o resultado do experimento é tido como aceitável.

A concentração mínima de detecção da aflatoxina B<sub>1</sub> para esta metodologia foi de 1,94 µg kg<sup>-1</sup>.

**Tabela 4.7** Teste de repetibilidade para amostras de amendoim sem tratamento

| Aflatoxina     | Quantidade adicionada (µg kg <sup>-1</sup> ) | Valores recuperados (µg kg <sup>-1</sup> ) | Média de recuperação (µg kg <sup>-1</sup> ) | Média de recuperação (%) | Coefficiente de variação (%) |
|----------------|--|--|---|--------------------------|------------------------------|
| B <sub>1</sub> | 7,8  | 8,1  | 7,7±1,02                                    | 98,72                    | 13,19                        |
|                |  | 8,8  |   |                          |                              |
|                |  | 8,8  |   |                          |                              |
|                |  | 6,6  |   |                          |                              |
|                |  | 7,3  |   |                          |                              |
|                |  | 6,6  |   |                          |                              |

#### b) Teste de recuperação

O teste de recuperação, segundo PRADO et al. (2008) caracteriza o desempenho do método analítico, foi realizado apenas para a aflatoxina B<sub>1</sub> pelo fato de somente esta toxina estar incluída no Grupo 1 (provável carcinógeno).

Estudos de recuperação foram realizados em amostras isentas de aflatoxinas, mediante testes anteriores e tratados com o extrato de sucupira. Essas amostras em réplica foram contaminadas com diferentes concentrações de aflatoxina B<sub>1</sub>. A recuperação foi calculada pela relação entre a quantidade de aflatoxina adicionada e a quantidade de aflatoxina quantificada depois de passar por todo o procedimento analítico de extração e quantificação de aflatoxinas. Desta forma e ao se analisar os resultados da Tabela 4.8, verifica-se igualdade para os valores recuperados, resultando em coeficiente de variação igual a 0%, resultado que encontra apoio nas observações de BRAGA (2003), encontrando-se valores do coeficiente de variação iguais a 0%. Esses valores de precisão decorrem da incerteza associada à medida do tamanho do “Spot” de fluorescência de cada aflatoxina, e impede a atribuição de valores de concentração intermediários as manchas de tamanhos minimamente diferentes.

**Tabela 4.8** Teste de recuperação para amostras de amendoim isentas de aflatoxina e tratadas com extrato de sucupira

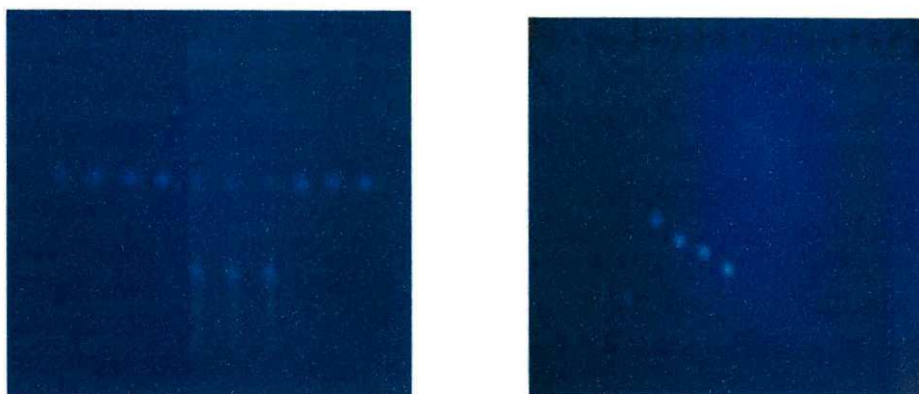
| Aflatoxina     | Quantidade adicionada ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) | Valores recuperados ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) | Média de recuperação ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) | Média de recuperação (%) | Coefficiente de de variação (%) |
|----------------|---|---|--|--------------------------|---------------------------------|
| B <sub>1</sub> | 7,8   | 6,2   | 6,2  | 79,5                     | 0                               |
|                |   | 6,2   |  |                          |                                 |
|                |   | 6,2   |  |                          |                                 |
|                | 15,5  | 9,3   | 9,3  | 60,0                     | 0                               |
|                |   | 9,3   |  |                          |                                 |
|                |   | 9,3   |  |                          |                                 |
|                | 31,0  | 18,6  | 18,6   | 60,0                     | 0                               |
|                |   | 18,6  |  |                          |                                 |
|                |   | 18,6  |  |                          |                                 |
|                |   | 18,6  |  |                          |                                 |
| Média          |   |   |  | 66,5                     | 0                               |

Os resultados da recuperação realizada em amostras de amendoim isentas de aflatoxinas e tratadas com extrato de sucupira com três níveis de contaminação, se encontram na Tabela 4.8, cujo o percentual médio obtido foi de 79,5, 60,0 e 60,0% para as respectivas concentrações 7,8, 15,5 e 31,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$  de aflatoxina B<sub>1</sub> adicionadas, com percentual médio geral de 66,5% de recuperação. Entretanto se encontram, na literatura, percentuais maiores de recuperação quando matrizes são tratadas com extratos vegetais. ALVES (2008) ao estudar extratos de neem (*Azadirachta indica*) no controle da aflatoxina em sementes de amendoim armazenadas, obteve 101,5% de média geral de recuperação, porém BRAGA (2003), trabalhando com extração de aflatoxinas em extratos de espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*), encontrou resultados de recuperação que corroboram com os obtidos neste estudo, obtendo 65% de média de recuperação para amostras contaminadas com aflatoxina B<sub>1</sub>. A diferença nos resultados de recuperação pode ser devida à diferença entre os tipos de amostra e os tratamentos por elas recebidos. Ademais, a determinação de aflatoxinas em matrizes complexas como produtos alimentícios e em alguns materiais de plantas por CCD (cromatografia em camada delgada) pode ser complicada pela quantidade de interferentes.

Durante a triagem e quantificação das amostras tratadas com o extrato de sucupira, observou-se que as amostras apresentavam manchas semelhantes à aflatoxina B<sub>1</sub>, porém com altura diferente quando comparada com o padrão respectivo; resultado semelhante foi constatado durante o teste de recuperação (Figura 4.1), no qual as manchas semelhantes à aflatoxina B<sub>1</sub>, mediante a contaminação com diferentes



concentrações de aflatoxina B<sub>1</sub>, apresentaram maior intensidade de fluorescência, fato que pode ser explicado, por uma possível derivação química, produto da reação entre alguma substância do extrato de sucupira com a aflatoxina B<sub>1</sub>, o que leva a sugerir maiores estudos acerca deste comportamento que, se confirmado, se caracterizaria como substância que poderia inativar a aflatoxina B<sub>1</sub> ou transformá-la em um metabólito menos toxigênico.



**Figura 4.1** Placas cromatográficas mostrando o teste de recuperação das amostras de amendoim tratadas com extrato de sucupira

#### 4.1.2 Armazenamento das sementes fora e dentro do fruto

##### 4.1.2.1 Teor de umidade

Através da análise de variância constatou-se que as fontes de variação extrato, condição de armazenamento, tempo e suas interações, indicaram efeito significativo para todos os fatores e suas interações duplas (Tabela A6).

De acordo com os dados da interação Doses x Condição de armazenamento contidos na Tabela 4.9, observa-se igualdade estatística para a condição fora do fruto (FF) em todas as doses, à exceção de D<sub>70</sub> que não diferiu de D<sub>100</sub> e armazenou o amendoim com menor teor de umidade (7,32%); já para a condição DF, tem-se igualdade estatística para todas as doses nas sementes armazenadas, isto é, as sementes se comportaram ao longo do armazenamento com o mesmo teor de umidade. Entre as condições de armazenamento e para a mesma dose, o amendoim dentro do fruto, a

exceção de D<sub>10</sub> e D<sub>70</sub> em que o teor de umidade foi igual estatisticamente ao FF, armazenaram o amendoim com menor teor de umidade.

**Tabela 4.9** Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Doses x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| Doses (mL)       | Condição de armazenamento |                      |
|------------------|---------------------------|----------------------|
|                  | Fora do fruto (FF)        | Dentro do fruto (DF) |
| D <sub>0</sub>   | 7,43 aA                   | 7,28 aB              |
| D <sub>10</sub>  | 7,40 aA                   | 7,30 aA              |
| D <sub>40</sub>  | 7,54 aA                   | 7,25 aB              |
| D <sub>70</sub>  | 7,25 bA                   | 7,28 aA              |
| D <sub>100</sub> | 7,39 abA                  | 7,20 aB              |
| DMS (C)          | 0,15                      |                      |
| DMS (L)          | 0,11                      |                      |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Com base nesses resultados, vê-se que a vagem (fruto) do amendoim influenciou a troca de umidade entre a semente e o ambiente de armazenamento, influenciado pela temperatura e a umidade relativa, em que se armazenou a semente DF com menor teor de umidade que a semente FF. Este fato é referenciado por ALMEIDA et al. (1997), quando afirmam que as sementes, por serem higroscópicas, trocam de umidade com o meio até atingirem seu equilíbrio.

Para a interação Tempo x Condição de armazenamento (Tabela 4.10) tem-se para a condição FF, o maior teor de umidade das sementes no tempo T<sub>9</sub> (8,30%), que foi estatisticamente diferente das demais doses, com T<sub>0</sub> > T<sub>6</sub> > T<sub>3</sub> > T<sub>12</sub>.

Com relação às sementes armazenadas DF, não houve diferença estatística nos tempos T<sub>0</sub>, T<sub>6</sub> e T<sub>9</sub>, os quais diferiram de T<sub>3</sub>, e de T<sub>12</sub>.

Esta variação do teor de umidade, tanto nas sementes armazenadas FF como DF, leva ao entendimento de que as sementes, mesmo armazenadas dentro do fruto, podem sofrer variações no seu teor de umidade ao longo do armazenamento, desde que as condições de umidade relativa do ar e temperatura também sofram variações. Resultados similares foram obtidos por AZEREDO et al. (2005), ao verificarem para as sementes de amendoim fora do fruto, armazenadas sob condições ambientais em

embalagem metálica, pequenas variações de umidade ao longo do armazenamento, semelhante as sementes armazenadas dentro do fruto, neste trabalho.

**Tabela 4.10** Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Tempo x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| Tempo (meses)   | Condição de armazenamento |                      |
|-----------------|---------------------------|----------------------|
|                 | Fora do fruto (FF)        | Dentro do fruto (DF) |
| T <sub>0</sub>  | 8,15 bA                   | 7,78 aB              |
| T <sub>3</sub>  | 6,67 dA                   | 6,66 bA              |
| T <sub>6</sub>  | 7,86 cA                   | 7,92 aA              |
| T <sub>9</sub>  | 8,30 aA                   | 7,85 aB              |
| T <sub>12</sub> | 6,04 eA                   | 6,09 cA              |
| DMS (C)         | 0,15                      |                      |
| DMS (L)         | 0,11                      |                      |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Conforme dados da Tabela 4.11 verificam-se de forma geral, variações do teor de umidade entre as doses do extrato aplicado.

No tempo inicial (T<sub>0</sub>) as sementes que não receberam tratamento (D<sub>0</sub>) se armazenaram com teor de umidade inferior ao das demais doses, sendo que a dose D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub> não diferiu do ponto de vista da estatística e, foram superiores as doses de D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub>, possivelmente pela proporção de extrato:água que nas doses D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub> continham mais água em sua composição em comparação com as demais doses, contribuindo para elevar o teor de umidade das sementes. Aos 3 meses de armazenamento (T<sub>3</sub>) houve igualdade estatística para todas as doses; contudo, após este período o teor de umidade variou de forma desordenada dentro das doses. Entre o tempo observa-se grande variação do teor de umidade e redução deste teor conforme avanço do tempo de armazenamento, fato que se deve provavelmente, à influência das condições ambientais do meio de armazenamento, especialmente a temperatura e a umidade relativa do ar que devem ter variado durante o tempo, elevando ou diminuindo a umidade da sementes devido a higroscopicidade das mesmas permitir a troca de umidade até estas atingirem o equilíbrio.

Para MARTIN (1985), a umidade ideal de armazenamento de amendoim é de 10% quando este for destinado para grão e de 7% quando para semente. No presente

trabalho, para o armazenamento as sementes dentro ou fora do fruto se comportaram com teor de umidade inferior em todas as doses e tempo, indicando que o tratamento recebido e o período de armazenamento  $T_0$  não elevaram a umidade das sementes acima de 8,60% ( $D_{40} \times T_0$ ) nem abaixo de 5,85% ( $D_{40} \times T_{12}$ ).

**Tabela 4.11** Valores médios do teor de umidade (%) para a interação Doses x Tempo das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto durante 12 meses

| Doses<br>(mL) | Tempo (meses) |         |          |         |          |
|---------------|---------------|---------|----------|---------|----------|
|               | $T_0$         | $T_3$   | $T_6$    | $T_9$   | $T_{12}$ |
| $D_0$         | 7,14 cC       | 6,73 aD | 8,00 abB | 8,70 aA | 6,21 aE  |
| $D_{10}$      | 8,43 aA       | 6,68 aC | 7,77 bB  | 7,79 cB | 6,08 abD |
| $D_{40}$      | 8,60 aA       | 6,65 aD | 8,11 aB  | 7,74 cC | 5,85 bE  |
| $D_{70}$      | 7,92 bA       | 6,63 aB | 7,83 bA  | 7,94 cA | 6,01 abC |
| $D_{100}$     | 7,69 bB       | 6,65 aC | 7,76 bB  | 8,20 bA | 6,18 aD  |
| DMS (C)       | 0,24          |         |          |         |          |
| DMS (L)       | 0,24          |         |          |         |          |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

#### 4.1.2.2 Incidência de fungos

Os resultados da análise de variância da incidência de fungos para as sementes de amendoim armazenadas indicaram efeito significativo para todos os fatores e suas interações duplas, à exceção do *Penicillium* para a interação Doses x Condição de armazenamento (Tabela A7 a A10).

Na Tabela 4.12 pode-se verificar, para as sementes armazenadas fora do fruto (FF) que a aplicação do extrato de sucupira reduziu a incidência de *A. flavus*, de modo que  $D_0$  revelou superioridade estatística às demais doses e entre elas houve igualdade estatística entre  $D_{40}$  e  $D_{100}$ , diferindo das demais. Com relação às sementes armazenadas dentro do fruto (DF) a dose  $D_0$  apresentou-se da mesma forma que nas sementes armazenadas FF, superioridade estatística às demais doses, entre as quais não houve diferença estatística.

Tratando-se do *A. niger* para as sementes armazenadas FF verificou-se aumento da sua ocorrência nas sementes tratados com o extrato hidroalcoólico de sucupira em

comparação aos que não receberam esse tratamento, tendo as D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub> igualdade estatística e superioridade às demais doses D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub> que foram estatisticamente iguais porém nas sementes em que foram armazenadas DF a aplicação do extrato mostrou-se eficiente, reduzindo a incidência desses fungos nas sementes, principalmente em D<sub>100</sub> que foi estatisticamente igual a D<sub>70</sub>.

**Tabela 4.12** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto durante 12 meses

| Doses<br>(mL)    | Condição de armazenamento |          |                 |          |                 |           |    |  |
|------------------|---------------------------|----------|-----------------|----------|-----------------|-----------|----|--|
|                  | FF                        |          | DF              |          | FF              |           | DF |  |
|                  | <i>A. flavus</i>          |          | <i>A. niger</i> |          | <i>Rhizopus</i> |           |    |  |
| D <sub>0</sub>   | 81,50 aA                  | 25,50 aB | 17,54 cA        | 10,52 aB | 69,51 aA        | 19,52 abB |    |  |
| D <sub>10</sub>  | 70,00 bA                  | 15,01 bB | 30,52 aA        | 7,04 abB | 31,01 bcA       | 14,04 bB  |    |  |
| D <sub>40</sub>  | 56,00 cA                  | 13,52 bB | 32,52 aA        | 7,54 abB | 33,51 bA        | 20,00 abB |    |  |
| D <sub>70</sub>  | 41,50 dA                  | 11,55 bB | 22,52 bA        | 5,05 bcB | 30,01 bcA       | 21,00 aB  |    |  |
| D <sub>100</sub> | 58,5 cA                   | 11,04 bB | 23,52 bA        | 3,07 cB  | 24,53 cA        | 15,04 abB |    |  |
| DMS (C)          | 4,21                      |          | 3,87            |          | 6,64            |           |    |  |
| DMS (L)          | 3,01                      |          | 2,77            |          | 4,75            |           |    |  |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; FF: sementes armazenadas fora do fruto; DF: sementes armazenadas dentro do fruto

Para as sementes armazenadas FF, dentro de cada dose e para cada procedimento isoladamente, a utilização do extrato em suas diferentes doses foi eficiente na redução de *Rhizopus* frente às sementes que não receberam tratamento, porém isso não foi verificado quando as sementes foram armazenadas DF, de modo que os tratamentos D<sub>0</sub>, D<sub>40</sub>, D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub> foram estatisticamente iguais e a dose D<sub>70</sub> se isolou da D<sub>10</sub> (D<sub>70</sub> > D<sub>10</sub>).

Observa-se, também, diferença estatística entre as condições de armazenamento para cada dose constatando-se maior incidência de fungos *A. flavus*, *A. niger* e *Rhizopus* nas sementes de amendoim armazenadas FF, sendo esta incidência bem reduzida nas sementes em que foram armazenadas DF.

Esses dados revelam que a aplicação do extrato de sucupira às sementes de amendoim armazenadas, controlou a incidência dos fungos, principalmente *A. flavus* em ambas as condições, em que para o *A. flavus* a incidência foi reduzida de 81,50% em D<sub>0</sub> para 41,50% em D<sub>70</sub> no procedimento FF e de 25,50 para 12,78% nas demais doses no procedimento DF. Observa-se, ainda, que a menor ocorrência ocorreu para *A. niger* na condição DF seguida de *Rhizopus* também DF. Este resultado se deve, em parte, à

vagem (casca) que conferiu uma proteção significativa às sementes contra a invasão de fungos, afirmativa que corrobora com BRUNO et al. (2000) ao afirmarem que as sementes de amendoim fora do fruto sem tratamento fungicida apresentaram maior incidência de *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*, enquanto as sementes armazenadas dentro do fruto apresentaram menor incidência desses fungos.

Em análise aos dados da Tabela 4.13, verifica-se que a incidência de *A. flavus* em T<sub>0</sub> foi inferior estatisticamente aos demais tempos, sendo T<sub>3</sub> < T<sub>6</sub> < T<sub>9</sub> < T<sub>12</sub>; logo, o aumento da incidência desse fungo nas sementes de amendoim armazenadas FF ocorreu de forma crescente com o tempo de armazenamento. Nas sementes armazenadas DF o T<sub>0</sub> foi estatisticamente igual ao T<sub>9</sub>, que foi superior ao T<sub>3</sub> e T<sub>6</sub>, e inferior ao T<sub>12</sub>, onde ocorreu maior incidência do *A. flavus*. Para a incidência de *A. niger* nas sementes FF observa-se que o T<sub>12</sub> foi superior a todos os demais tempos, em que T<sub>3</sub>, T<sub>6</sub> e T<sub>9</sub> se igualaram estatisticamente com maior incidência em relação ao T<sub>0</sub>, e em D<sub>0</sub> a incidência foi nula. Para as sementes armazenadas DF observa-se variação na incidência desse fungo, com menor ocorrência aos 9 meses de armazenamento, cujas variações podem ocorrer devido às particularidades de cada espécie de fungos e também pela influência das condições de armazenamento e do tempo.

**Tabela 4.13** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Tempo x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| Tempo (meses)   | Incidência de fungos (%) |          |                 |           |                 |           |                    |          |
|-----------------|--------------------------|----------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|--------------------|----------|
|                 | FF                       |          | DF              |           | FF              |           | DF                 |          |
|                 | <i>A. flavus</i>         |          | <i>A. niger</i> |           | <i>Rhizopus</i> |           | <i>Penicillium</i> |          |
| T <sub>0</sub>  | 15,00 eA                 | 15,00 bA | 0,00 cB         | 10,00 abA | 5,05 cB         | 10,00 cA  | 0,00 bA            | 0,00 bA  |
| T <sub>3</sub>  | 52,50 dA                 | 6,54 cB  | 27,00 bA        | 6,54 bcB  | 41,52 bA        | 13,54 bcB | 0,00 bA            | 0,00 bA  |
| T <sub>6</sub>  | 63,00 cA                 | 6,04 cB  | 23,52 bA        | 11,53 aB  | 43,00 bA        | 11,54 cB  | 0,00 bA            | 0,00 bA  |
| T <sub>9</sub>  | 83,00 bA                 | 14,55 bB | 26,00 bA        | 1,09 bB   | 52,00 aA        | 18,52 bB  | 0,00 bA            | 1,09 bA  |
| T <sub>12</sub> | 94,00 aA                 | 34,50 aB | 50,00 aA        | 4,07 cdB  | 47,00 abA       | 36,00 aB  | 27,50 aB           | 50,50 aA |
| DMS (C)         | 4,21                     |          | 2,77            |           | 6,64            |           | 2,51               |          |
| DMS (L)         | 3,01                     |          | 3,87            |           | 4,75            |           | 1,80               |          |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; FF: sementes armazenadas fora do fruto; DF: sementes armazenadas dentro do fruto

Para o *Rhizopus* verificou-se redução de sua incidência em comparação com a T<sub>0</sub> com os demais tempos para as sementes armazenadas FF, enquanto nas sementes armazenadas FF o T<sub>0</sub>, T<sub>6</sub>, T<sub>9</sub> e T<sub>12</sub> tiveram igualdade estatística, com superioridade

isolada de  $T_3$  sobre  $T_9$ . Para o gênero *Penicillium* observa-se ocorrência desse fungo apenas em  $T_{12}$  nas sementes FF, e aos 9 e 12 meses nas sementes armazenadas DF.

Quanto ao tempo dentro da condição de armazenamento, houve igualdade estatística apenas para o tempo inicial quanto à incidência de *A. flavus*, nos demais meses as condições de armazenamento dentro e fora do fruto diferiram estatisticamente entre si, sendo que as sementes armazenadas FF apresentaram superioridade estatística frente às armazenadas DF. Para *A. niger* e *Rhizopus* houve diferença estatística em todos os períodos de armazenamento, com maior incidência para a condição de armazenamento FF assim como se deu com *A. flavus*, exceto para *A. niger* no  $T_0$  em que se registra maior incidência desse fungo nas sementes DF frente às FF. Com relação ao *Penicillium* a incidência se deu apenas em  $T_9$  com as sementes dentro do fruto (DF) e em  $T_{12}$  nas duas condições (DF e FF), com menor incidência em FF. Em referência a este comportamento, salienta-se que os fungos desse gênero são caracterizados por ocorrerem apenas no armazenamento.

Verifica-se que, no geral, o armazenamento das sementes dentro do fruto contribui de forma positiva para a redução da incidência de fungos durante o armazenamento, afirmativa observada também por BRUNO et al. (2000), quando sementes de amendoim armazenadas dentro do fruto apresentaram menor incidência de fungos em comparação com as armazenadas fora do fruto.

Para a interação Doses x Tempo (Tabela 4.14), pode-se verificar no  $T_0$  igualdade estatística entre as doses para todos os fungos, visto que este foi o período de caracterização das sementes. Houve redução da incidência de *A. flavus* com o aumento da dose nos tempos  $T_3$ ,  $T_6$  e  $T_9$  quando comparados com  $D_0$ . Para  $T_3$  tem-se igualdade estatística entre  $D_{10}$  e  $D_{100}$  e entre  $D_{40}$  e  $D_{70}$ , com a ocorrência de menor incidência. Em  $T_6$  não se registrou diferença entre as doses  $D_{10}$  e  $D_{100}$  as quais foram, após a  $D_0$ , superiores e diferiram das demais doses. No  $T_9$  a menor incidência de *A. flavus* foi com a  $D_{70}$  (25,05%), a qual foi estatisticamente diferente das demais. No 12º mês de armazenamento, dentre as doses a menor incidência ocorreu com  $D_{100}$  (55,00%) seguida de  $D_{10}$  (61,25%). Entre os tempos para cada dose, à exceção de  $D_{70}$  no tempo  $T_3$  foi maior a incidência de *A. flavus* à medida em que avançou o período de armazenamento.

**Tabela 4.14** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Tempo em sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| Doses<br>(mL)      | Tempo (meses)  |                |                |                |                 |
|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
|                    | T <sub>0</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>6</sub> | T <sub>9</sub> | T <sub>12</sub> |
| <i>A. flavus</i>   |                |                |                |                |                 |
| D <sub>0</sub>     | 15,00 aC       | 55,00 aB       | 53,75 aB       | 71,25 aA       | 72,50aA         |
| D <sub>10</sub>    | 15,00 aD       | 33,77 bC       | 41,25 bB       | 61,25 bA       | 61,25bcA        |
| D <sub>40</sub>    | 15,00 aD       | 16,26 cD       | 25,02 cC       | 51,27 cB       | 66,25abA        |
| D <sub>70</sub>    | 15,00 aC       | 11,27 cC       | 15,05 dC       | 25,05 eB       | 66,25abA        |
| D <sub>100</sub>   | 15,00 aC       | 31,28 bB       | 37,52 bB       | 35,05 dB       | 55,00cA         |
| DMS (C)            | 6,65           |                |                |                |                 |
| DMS (L)            | 6,65           |                |                |                |                 |
| <i>A. niger</i>    |                |                |                |                |                 |
| D <sub>0</sub>     | 5,05 aC        | 18,77 bB       | 10,05 cC       | 8,78 cC        | 27,50 aA        |
| D <sub>10</sub>    | 5,05 aD        | 20,02 abBC     | 30,00 aA       | 22,53 aB       | 16,30 bC        |
| D <sub>40</sub>    | 5,05 aD        | 25,00 aB       | 21,25 bBC      | 16,30 bC       | 32,55 aA        |
| D <sub>70</sub>    | 5,05 aC        | 12,52 cB       | 13,77 cB       | 8,80 cBC       | 28,78 aA        |
| D <sub>100</sub>   | 5,05 aC        | 7,53 cBC       | 12,55 cB       | 11,30 bcB      | 30,03 aA        |
| DMS (C)            | 6,13           |                |                |                |                 |
| DMS (L)            | 6,13           |                |                |                |                 |
| <i>Rhizopus</i>    |                |                |                |                |                 |
| D <sub>0</sub>     | 7,52 aC        | 42,52 aB       | 36,27 aB       | 66,25 aA       | 70,00 aA        |
| D <sub>10</sub>    | 7,52 aB        | 23,77 cA       | 26,27 abA      | 22,55 bA       | 32,50 bcA       |
| D <sub>40</sub>    | 7,52 aC        | 40,00 abA      | 30,00 aAB      | 23,75 bB       | 32,50 bcAB      |
| D <sub>70</sub>    | 7,52 aB        | 31,25 bcA      | 27,50 aA       | 31,25 bA       | 30,00 cA        |
| D <sub>100</sub>   | 7,52 aBC       | 0,00 dC        | 16,30 bB       | 32,50 bA       | 42,50 bA        |
| DMS (C)            | 10,50          |                |                |                |                 |
| DMS (L)            | 10,50          |                |                |                |                 |
| <i>Penicillium</i> |                |                |                |                |                 |
| D <sub>0</sub>     | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 45,00 aA        |
| D <sub>10</sub>    | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 40,00 bA        |
| D <sub>40</sub>    | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 35,00 cA        |
| D <sub>70</sub>    | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 37,50 bcA       |
| D <sub>100</sub>   | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 2,57 aB        | 37,50 bcA       |
| DMS (C)            | 3,98           |                |                |                |                 |
| DMS (L)            | 3,98           |                |                |                |                 |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

O *A. niger* incidiu dentro de cada dose em maiores porcentagem aos doze meses de armazenamento, com exceção de D<sub>10</sub>, que apresentou maior incidência desses fungos aos 6 meses de armazenamento. Com relação às doses dentro de cada tempo, verifica-se para o período de caracterização (T<sub>0</sub>) igualdade estatística entre todas as doses, em T<sub>3</sub>



foram estatisticamente iguais às doses  $D_0$  e  $D_{10}$ , assim como  $D_{10}$  e  $D_{40}$  e entre  $D_{70}$  e  $D_{100}$ . Em  $T_6$  e  $T_9$  é notável uma igualdade estatística entre  $D_0$ ,  $D_{70}$  e  $D_{100}$ , de forma que no último período de armazenagem ( $T_{12}$ ) apenas na  $D_{10}$  se registrou diferença estatística, além de inferioridade em relação às demais doses.

Para o *Rhizopus*, a maior ocorrência durante os tempos ocorreu na  $D_0$ , ou seja, nas sementes não tratadas. No  $T_0$  não houve diferenças significativas entre as doses visto ser o período de caracterização, já no  $T_3$ , o maior controle se deu com  $D_{100}$ , da mesma forma que em  $T_6$ , sendo que neste tempo houve igualdade entre as doses  $D_{100}$  e  $D_{10}$ ; no entanto, em  $T_9$  houve igualdade estatística entre todas as doses, exceto para a  $D_0$ , sendo em  $T_{12}$  o *Rhizopus* incidiu praticamente igual dentro das doses, à exceção de  $D_0$ .

Faltou-se ocorrência de *penicillium* apenas aos 9 e 12 meses de armazenamento, sendo que em  $T_9$  só foi verificado, na  $D_{100}$ ; contudo, foi estatisticamente igual às demais doses; em  $T_{12}$  houve maiores incidências desses fungos com igualdade estatística entre todas as doses.

Verificou-se, com o avanço do tempo de armazenamento, o crescimento da micoflora das sementes de amendoim armazenadas em todas as doses de extrato utilizado, mas a aplicação de extratos vegetais pode contribuir, de forma positiva, para algumas espécies de fungos e de forma negativa para outras espécies, visto que cada espécie fúngica possui suas peculiaridades, quanto ao substrato, temperatura e umidade ótima para desenvolvimento, como também sensibilidade a alguns compostos que inibem seu desenvolvimento micelial e, conforme o tempo de armazenamento, pode ocorrer redução dos princípios ativos, reduzindo a eficiência dos extratos no controle de fungos.

Esta afirmação encontra apoio no estudo de MIETH et al. (2007) em que verificam a influência de extratos aquosos em diferentes concentrações na qualidade sanitária de sementes, verificando que um extrato pode contribuir de forma positiva para o controle de alguns fungos e pode atuar negativamente, favorecendo o desenvolvimento, como foi o caso do extrato de pitanga, que favoreceu a incidência de fungos.

#### 4.1.2.3 Determinação de aflatoxinas

Para as sementes de amendoim armazenadas dentro e fora do fruto durante 12 meses, não foi detectada a positividade dos tipos de aflatoxinas (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>) nas amostras. A ausência de contaminação nessas sementes durante todo o período de armazenamento indica que as condições das sementes, principalmente teor de umidade, aliadas a condições como umidade relativa e temperatura do ambiente, entre outros fatores, não favoreceram a ocorrência de aflatoxinas nas diferentes condições de armazenamento como também nas doses de extrato aplicadas. Esses resultados encontram apoio nos de ALVES (1995) que, analisando teores de aflatoxinas em sementes de amendoim armazenadas em diferentes embalagens, observou que as condições de armazenamento não influenciaram a contaminação de aflatoxina; contudo nas sementes que já estavam inicialmente contaminadas, os teores aumentaram durante o período de armazenamento.

## 4.2 Segundo experimento – cv. BR 1

### 4.2.1 Armazenamento das sementes inoculadas e não inoculadas com o *A. flavus*

#### 4.2.1.1 Teor de umidade

A análise de variância correspondente às médias obtidas para o teor de umidade referente ao Procedimento, Doses do extrato e Tempo nas sementes de amendoim armazenadas se encontram na Tabela A11, na qual se observou efeito significativo para os fatores Procedimento, Doses e Tempo e suas interações: Tempo x Procedimento e Doses x Tempo.

Com relação aos resultados do teor de umidade contidos na Tabela 4.15 para a interação Dose x Procedimento, tem-se para o procedimento NI, em T<sub>0</sub> superioridade estatística frente aos demais tempos (8,38%), seguido de T<sub>2</sub> que foi maior que T<sub>1</sub>, e igual teor de umidade nos demais tempos, conforme resultados revelados pela estatística.

Com relação ao procedimento I ao longo do armazenamento, o maior teor de umidade ocorreu no período de caracterização (8,38%), seguido do T<sub>1</sub>. Ainda neste procedimento pode-se observar igualdade estatística para os tempos T<sub>2</sub>, T<sub>4</sub> e T<sub>5</sub>, que foram superiores a T<sub>3</sub>. Entre os procedimentos, à exceção de T<sub>0</sub> e T<sub>1</sub>, os demais tempos do procedimento I armazenaram as sementes de amendoim com teor de umidade inferior a NI e ainda se observa o mesmo teor de umidade em NI e I no tempo T<sub>0</sub> (8,38%).

**Tabela 4.15** Valores médios do teor de umidade (%) para interação Tempo x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 5 meses de armazenamento

| Tempo (meses)  | Procedimento       |               |
|----------------|--------------------|---------------|
|                | Não inoculado (NI) | Inoculado (I) |
| T <sub>0</sub> | 8,38 aA            | 8,38 aA       |
| T <sub>1</sub> | 6,26 cB            | 6,47 bA       |
| T <sub>2</sub> | 6,57 bA            | 5,45 cB       |
| T <sub>3</sub> | 6,05 dA            | 5,10 dB       |
| T <sub>4</sub> | 6,19 cdA           | 5,44 cB       |
| T <sub>5</sub> | 6,10 dA            | 5,31 cB       |
| DMS (C)        | 0,15               |               |
| DMS (L)        | 0,10               |               |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Comportamento similar ocorreu no primeiro experimento com a cultivar BRS Havana, conforme Tabela 4.1, variação esta atribuída à embalagem em que as sementes foram acondicionadas que, por serem permeáveis, permitiu a troca de umidade das sementes com a atmosfera do ambiente de armazenamento, devido à oscilação promovida pelas variações climáticas ocorridas durante a realização do experimento, em especial temperatura e umidade relativa do ar.

Em análise da Tabela 4.16, verifica-se no T<sub>0</sub> que o menor teor de umidade ocorreu nas sementes que não receberam tratamento (D<sub>0</sub>). Em relação às demais doses, observou-se igualdade estatística entre D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub>, seguida de D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub> que também foram iguais. Nos tempos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> não houve efeito do extrato de sucupira entre as doses aplicadas às sementes mas em T<sub>4</sub> e T<sub>5</sub>, houve variações entre as doses, sendo esta a menor umidade obtida com D<sub>40</sub>, quer em T<sub>4</sub> e T<sub>5</sub>.

Em referência às doses dentro dos tempos, observa-se diminuição do teor de umidade em todas as doses, à medida em que avança o período de armazenamento, com exceção dos tempos T<sub>4</sub> e T<sub>5</sub> essas variações podem ter ocorrido em virtude das sementes serem materiais higroscópicos e tenderem a absorver ou perder água, de acordo com as variações da umidade e temperatura do ar que as circundam, desde que a embalagem permita essa troca. Referidos dados encontram apoio no trabalho de ALMEIDA (2003) que, estudando o efeito de extratos vegetais no controle de pragas do feijão vigna, constatou variações no teor de umidade, e que esta pode variar ou não com as condições do ambiente, armazenamento, período e embalagens.

**Tabela 4.16** Valores médios do teor de umidade (%) para interação Doses x Tempo de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 5 meses de armazenamento

| Doses<br>(mL)    | Tempo (meses)  |                |                |                |                |                |
|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                  | T <sub>0</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>4</sub> | T <sub>5</sub> |
| D <sub>0</sub>   | 7,85 cA        | 6,45 aB        | 6,10 aC        | 5,52 aE        | 5,86 abCD      | 5,63 abDE      |
| D <sub>10</sub>  | 8,71 aA        | 6,31 aB        | 5,91 aC        | 5,58 aD        | 5,75 bcCD      | 5,70 abCD      |
| D <sub>40</sub>  | 8,71 aA        | 6,27 aB        | 6,11 aB        | 5,56 aC        | 5,63 cC        | 5,57 bC        |
| D <sub>70</sub>  | 8,22 bA        | 6,32 aB        | 6,02 aC        | 5,65 aD        | 5,83 abcCD     | 5,79 abCD      |
| D <sub>100</sub> | 8,41 bA        | 6,48 aB        | 5,92 aC        | 5,57 aD        | 6,00 aC        | 5,84 aC        |
| DMS (C)          | 0,22           |                |                |                |                |                |
| DMS (L)          | 0,24           |                |                |                |                |                |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

#### 4.2.1.2 Incidência de fungos

Os resultados da análise de variância da incidência de fungos se encontram nas Tabelas A12 a A15 e indicam efeito significativo de todos os fatores e suas interações duplas, exceto para o fungo *Penicillium*, em que se detectou significância apenas para a interação Tempo x Doses.

Em análise à incidência de fungos presentes nas sementes de amendoim armazenadas, para a interação Doses x Procedimento (Tabela 4.17) verifica-se, para o fator procedimento dentro de cada dose, superioridade estatística para as sementes inoculadas (I) com o *A. flavus* frente ao procedimento NI e o contrário ocorreu com os

fungos *A. niger* e *Rhizopus*, isto é, o procedimento NI foi estatisticamente superior ao I para todas as doses.

Dentro de cada dose a incidência de *A. flavus*, *A. niger* e *Rhizopus* no procedimento inoculado (I) não apresentou diferença estatística enquanto no procedimento NI houve diferença estatística, sendo a menor ocorrência de *A. flavus* verificada em D<sub>40</sub> (56,25%), seguida de D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub>, que foram estatisticamente iguais, assim como D<sub>0</sub> e D<sub>10</sub>, com maior população desses fungos nas sementes (72,29%). Com relação ao comportamento do *A. niger* registrou-se menor incidência na D<sub>100</sub>, seguida de D<sub>10</sub>, sendo a ocorrência estatisticamente igual nas demais doses D<sub>0</sub>, D<sub>40</sub> e D<sub>70</sub>. Com relação ao *Rhizopus* a maior incidência foi constatada na dose D<sub>0</sub> e a menor em D<sub>100</sub>, seguida das demais doses, como indicado em D<sub>40</sub> < D<sub>70</sub> < D<sub>10</sub>.

**Tabela 4.17** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 5 meses de armazenamento

| Doses<br>(mL)    | Incidência de fungos (%) |          |                 |         |                |         |
|------------------|--------------------------|----------|-----------------|---------|----------------|---------|
|                  | NI                       |          | I               |         | NI             |         |
|                  | <i>A. flavus</i>         |          | <i>A. niger</i> |         | <i>Rizopus</i> |         |
| D <sub>0</sub>   | 72,50 aB                 | 90,00 aA | 28,33 aA        | 4,20 aB | 28,35 aA       | 0,00 aB |
| D <sub>10</sub>  | 72,08 aB                 | 90,00 aA | 18,34 bA        | 4,25aB  | 25,01 bA       | 0,00 aB |
| D <sub>40</sub>  | 56,25 cB                 | 90,00 aA | 27,91 aA        | 4,25 aB | 16,30 dA       | 0,00 aB |
| D <sub>70</sub>  | 65,00 bB                 | 90,00 aA | 27,91 aA        | 4,25 aB | 22,10 cA       | 0,00 aB |
| D <sub>100</sub> | 63,33 bB                 | 90,00 aA | 12,52 cA        | 4,25 aB | 12,15 eA       | 0,00 aB |
| DMS (C)          | 3,60                     |          | 4,12            |         | 2,49           |         |
| DMS (L)          | 2,58                     |          | 2,95            |         | 1,78           |         |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; NI: não inoculado; I: inoculado

Pode-se evidenciar, ante esses resultados, que as sementes de amendoim tratadas com o extrato hidroalcoólico de sucupira nas maiores doses para o procedimento NI contribuíram para a redução de incidência dos fungos. CAMARGO (2007), estudando o efeito da aplicação do óleo essencial em sementes de espécies florestais, verificou que o mesmo reduziu a incidência de fungos nas sementes.

A superioridade da incidência de *A. flavus* no procedimento I se deve, provavelmente, a uma competição antagônica que ocorre com o *A. flavus* frente ao *A. niger* e *Rhizopus*, conforme ocorrido para a mesma interação (Tabela 4.4) na cultivar Havana (primeiro experimento), sendo referenciado que esta competição entre os

fungos, principalmente por substrato e espaço, pode ocorrer, de forma que a maior população de um fungo pode inibir o desenvolvimento dos demais.

Para a interação Tempo x Procedimento da incidência de fungos (Tabela 4.18) tem-se, para o procedimento em cada tempo, superioridade estatística para as sementes inoculadas I frente às NI da incidência de *A. flavus*, à exceção do T<sub>0</sub> em que foram estatisticamente iguais ambos os procedimentos; o contrário ocorreu para o comportamento do *A. niger* e *Rhizopus*, em que o procedimento NI foi estatisticamente superior ao procedimento (I) para todos os tempos, à exceção do T<sub>0</sub>, que revelou igualdade estatística para incidência de *A. niger*.

Analisando-se os resultados médios do procedimento I dentro de cada tempo, verifica-se a incidência de 100% de *A. flavus* ao longo do período de armazenamento a partir de T<sub>1</sub> e 0% de incidência nesses mesmos tempos (T<sub>1</sub> a T<sub>5</sub>) para *A. niger*, e também para o *Rhizopus*, inclusive em T<sub>0</sub> para este fungo.

**Tabela 4.18** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Tempo x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 5 meses de armazenamento

| Tempo (meses)  | Procedimento     |           |                 |          |                 |         |
|----------------|------------------|-----------|-----------------|----------|-----------------|---------|
|                | NI               |           | I               |          | NI              |         |
|                | <i>A. flavus</i> |           | <i>A. niger</i> |          | <i>Rizophus</i> |         |
| T <sub>0</sub> | 40,00 eA         | 40,00 bA  | 25,00 aA        | 25,00 aA | 22,50 bA        | 0,00 aB |
| T <sub>1</sub> | 57,50 dB         | 100,00 aA | 22,51 abA       | 0,00 bB  | 2,08 eA         | 0,00 aB |
| T <sub>2</sub> | 65,00 cB         | 100,00 aA | 24,00aA         | 0,00 bB  | 14,04 cA        | 0,00 aB |
| T <sub>3</sub> | 72,00 bB         | 100,00 aA | 19,00 bA        | 0,00 bB  | 7,56 dA         | 0,00 aB |
| T <sub>4</sub> | 80,00 aB         | 100,00 aA | 22,52 abA       | 0,00 bB  | 20,02 bA        | 0,00 aB |
| T <sub>5</sub> | 80,50 aB         | 100,00 aA | 25,01 aA        | 0,00 bB  | 58,50 aA        | 0,00 aB |
| DMS (C)        | 4,12             |           | 4,72            |          | 4,32            |         |
| DMS (L)        | 2,82             |           | 3,23            |          | 4,52            |         |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; NI: não inoculado; I: inoculado

Para NI, dentro de cada tempo, a maior incidência de *A. flavus* se deu para T<sub>4</sub> e T<sub>5</sub>, que foram estatisticamente iguais e superiores a T<sub>3</sub> > T<sub>2</sub> > T<sub>1</sub> > T<sub>0</sub>, os quais diferem estatisticamente conforme ordem de apresentação e o *A. niger*, assim como o *Rhizopus*, se comportaram de modo diferente. Em NI, a maior incidência do *A. niger* se deu em T<sub>5</sub> e a menor em T<sub>3</sub> e T<sub>1</sub>, respectivamente para *A. niger* e *Rizophus*. Observa-se, ainda, que apesar da maior incidência de *A. niger* ter ocorrido em T<sub>5</sub> não diferiu da incidência

encontrada em  $T_0$ ,  $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_4$ , enquanto a menor incidência de *Rhizopus* foi seguida estatisticamente por  $T_1 < T_3 < T_2 < T_4 = T_0 < T_5$  conforme ordem de apresentação.

De forma geral evidencia-se, para o procedimento NI, aumento da incidência de fungos nas sementes de amendoim tratadas com o extrato hidroalcoólico de sucupira ao longo do armazenamento, enquanto no I a incidência dos fungos se manteve constante a partir do primeiro mês de armazenamento. TANAKA et al. (2001), verificaram que a incidência de fungos do gênero *Aspergillus* aumenta ao longo do período de armazenamento, sobretudo em ambiente não controlado, o que confirma, em parte, os resultados encontrados neste estudo.

Conforme os dados contidos na Tabela 4.19 para a interação Doses x Tempo, verificou-se, em  $T_0$ , igualdade estatística entre todas as doses para a incidência dos fungos, visto ser o período de caracterização.

Com relação ao *A. flavus* pode-se verificar em  $T_1$  maior ocorrência desse fungo na  $D_0$  que foi estatisticamente igual a  $D_{10}$ , e menor incidência em  $D_{40} = D_{70} = D_{100}$ . No  $T_2$  a maior ocorrência foi na  $D_{70}$  seguida de  $D_0 = D_{10} = D_{100}$  e a menor em  $D_{40}$ ; já em  $T_3$  a dose que mais controlou o *A. flavus* foi a  $D_{100}$ , que foi estatisticamente igual a  $D_{70}$  e  $D_{40}$ , e a maior incidência ocorreu na dose  $D_0$  que obteve igualdade estatística com  $D_{10}$ . Em  $T_4$  as doses  $D_{10} = D_{70} = D_{100}$  ocorreram com maior incidência desse fungo, e a menor em  $D_0$  que foi estatisticamente igual a  $D_{40}$ . Ao final do armazenamento ( $T_5$ ) na  $D_{70}$  houve maior controle do *A. flavus* e menor controle nas doses  $D_0$  e  $D_{10}$  cuja incidência foi acima de 95,00%, com igualdade estatística. Com relação ao tempo dentro de cada dose, pode-se verificar que a maior ocorrência de *A. flavus* em  $D_0$  se deu no  $T_5$ , assim como na  $D_{10}$ ; contudo,  $T_5$  foi estatisticamente igual a  $T_4$  e  $T_3$ , em  $D_{40}$  sendo  $T_5$  estatisticamente igual a  $T_3$ , e em  $D_{100}$ , sendo  $T_5 = T_4$ ; já na  $D_{70}$  a maior ocorrência desse fungo foi em  $T_4$ , que foi estatisticamente igual a  $T_2$ .

Analisando-se os resultados obtidos com *A. niger* pode-se observar que a dose que se mostrou mais eficaz no controle da incidência desse fungo foi a  $D_{100}$  para os períodos  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$  e  $T_4$ , enquanto em  $T_5$  a menor ocorrência se deu em  $D_{10}$ , seguida das demais doses, que foram estatisticamente iguais. Com relação ao tempo, este fungo se comportou de forma desordenada, com maior ocorrência no período de caracterização em todas as doses, seguida do  $T_5$  em  $D_0$  e  $D_{100}$ ; já na  $D_{10}$ , à exceção do período de caracterização, a maior ocorrência se deu em  $T_1 = T_2$ , na  $D_{40}$  em  $T_4$  que foi estatisticamente igual a  $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_5$  e na  $D_{70}$  a incidência desse fungo ocorreu

estatisticamente igual em todos os períodos avaliados à exceção do período de caracterização.

**Tabela 4.19** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Tempo de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 5 meses de armazenamento

| Doses<br>(mL)      | Tempo (meses)  |                |                |                |                |                |
|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                    | T <sub>0</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>4</sub> | T <sub>5</sub> |
| <i>A. flavus</i>   |                |                |                |                |                |                |
| D <sub>0</sub>     | 40,00 aD       | 85,00 aC       | 82,50 bC       | 92,50 aB       | 87,50 bBC      | 100,00 aA      |
| D <sub>10</sub>    | 40,00 aC       | 80,00 abB      | 82,50 bB       | 95,00 aA       | 93,75 aA       | 95,00 abA      |
| D <sub>40</sub>    | 40,00 aD       | 73,75 cC       | 73,75 cC       | 82,50 bAB      | 80,00 cBC      | 88,75 cA       |
| D <sub>70</sub>    | 40,00 aC       | 78,75 bcB      | 92,50 aA       | 82,50 bB       | 93,75 aA       | 77,50 dB       |
| D <sub>100</sub>   | 40,00 aC       | 76,25 bcB      | 81,25 bB       | 77,50 bB       | 95,00 aA       | 90,00 bcA      |
| DMS (C)            | 6,24           |                |                |                |                |                |
| DMS (L)            | 6,52           |                |                |                |                |                |
| <i>A. niger</i>    |                |                |                |                |                |                |
| D <sub>0</sub>     | 25,00 aA       | 13,80 aBC      | 13,80 abBC     | 11,30 abC      | 15,05 aBC      | 18,80 aAB      |
| D <sub>10</sub>    | 25,00 aA       | 12,55 aB       | 12,55 abcB     | 7,55 abBC      | 7,55 bBC       | 2,57 bC        |
| D <sub>40</sub>    | 25,00 aA       | 12,55 aBC      | 17,55 aAB      | 10,05 abC      | 18,80 aAB      | 12,55 aBC      |
| D <sub>70</sub>    | 25,00 aA       | 16,30 aB       | 10,05bcB       | 13,80 aB       | 15,05aB        | 16,30 aB       |
| D <sub>100</sub>   | 25,00 aA       | 1,33 bC        | 6,30 cBC       | 5,05 bC        | 0,00 cC        | 12,55 aB       |
| DMS (C)            | 7,14           |                |                |                |                |                |
| DMS (L)            | 7,47           |                |                |                |                |                |
| <i>Rhizopus</i>    |                |                |                |                |                |                |
| D <sub>0</sub>     | 11,30 aB       | 0,00 bC        | 12,55 aB       | 10,05 aB       | 11,30 bB       | 40,05 aA       |
| D <sub>10</sub>    | 11,30 aC       | 5,05 aD        | 7,55 bCD       | 0,00 bE        | 17,55 aB       | 33,80 bA       |
| D <sub>40</sub>    | 11,30 aB       | 0,00 bC        | 0,00 cC        | 0,00 bC        | 12,55 bB       | 25,05 cA       |
| D <sub>70</sub>    | 11,30 aBC      | 0,00 bD        | 15,05aB        | 8,80 aC        | 8,80 bC        | 22,55 cA       |
| D <sub>100</sub>   | 11,30 aB       | 0,00 bC        | 0,00 cC        | 0,00 bC        | 0,00 cC        | 25,05 cA       |
| DMS (C)            | 4,32           |                |                |                |                |                |
| DMS (L)            | 4,52           |                |                |                |                |                |
| <i>Penicillium</i> |                |                |                |                |                |                |
| D <sub>0</sub>     | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 cB        | 15,00 aA       | 17,50 bA       | 17,50 bA       |
| D <sub>10</sub>    | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 cB        | 10,00 aA       | 15,00 bA       | 15,00 bcA      |
| D <sub>40</sub>    | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 17,50 aA       | 0,00 bB        | 0,00 cB        | 17,50 bA       |
| D <sub>70</sub>    | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 10,00 bA       | 10,00 aA       | 15,00 bA       | 10,00 cA       |
| D <sub>100</sub>   | 0,00 aB        | 0,00 aB        | 0,00 cB        | 0,00 bB        | 35,00 aA       | 37,50 aA       |
| DMS (C)            | 6,14           |                |                |                |                |                |
| DMS (L)            | 6,42           |                |                |                |                |                |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade



Com relação ao *Rhizopus*, houve variação na sua incidência dentro das doses em cada tempo, em T<sub>0</sub> houve ocorrência desse fungo apenas na D<sub>10</sub>; já no período T<sub>2</sub> notou-se ocorrência em D<sub>0</sub>, D<sub>10</sub> e D<sub>70</sub>, assim como em T<sub>3</sub> com exceção da dose D<sub>10</sub> onde não ocorreu a incidência desse no período. Em T<sub>4</sub> houve ocorrência em todas as doses, à exceção da D<sub>100</sub>, e no T<sub>5</sub> a maior ocorrência desse fungo foi em D<sub>0</sub>, seguida de D<sub>10</sub> e das demais doses que foram estatisticamente iguais. Com relação ao tempo verificou-se maior ocorrência desse fungo ao final do armazenamento (T<sub>5</sub>) em todas as doses de extrato aplicadas.

A incidência de *Penicillium* se deu a partir de T<sub>3</sub> nas doses D<sub>40</sub> e D<sub>70</sub> que, estatisticamente, foram iguais. Igualmente em T<sub>3</sub>, a incidência desse fungo se apresentou com igualdade estatística nas doses D<sub>0</sub>, D<sub>10</sub> e D<sub>70</sub>, e somente nelas. A partir de T<sub>4</sub>, a exceção de D<sub>40</sub>, neste tempo, em todas as doses se tem incidência de *Penicillium* com igualdade estatística dentro das doses D<sub>0</sub>, D<sub>10</sub> e D<sub>70</sub> e superioridade para a D<sub>100</sub>, com maior incidência desse fungo e também em T<sub>5</sub>, em que na D<sub>100</sub> também ocorreu maior incidência, seguida de D<sub>0</sub> que foi estatisticamente igual a D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub>, e a dose D<sub>70</sub> foi onde ocorreu menor incidência desse fungo.

Em síntese aos resultados da Tabela 4.19, a dose D<sub>100</sub> mostrou-se mais eficiente no controle dos fungos; contudo, houve um crescimento da infestação dos fungos para todas as doses com o avanço do tempo de armazenamento.

#### 4.2.1.3 Germinação

A análise de variância da porcentagem de germinação referente ao procedimento e tempo para as sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* e armazenadas durante 5 meses, encontra-se na Tabela A16, na qual se observa efeito significativo para todos os fatores e suas interações duplas. Para o fator quantitativo (período de armazenamento) a análise se deu por regressão (Tabela A17 a A23).

Conforme dados da Tabela 4.20 (Doses x Procedimento) observou-se, para o procedimento NI, igualdade estatística entre as doses D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub> (51,96%), e sua germinação foi maior que em D<sub>0</sub> e D<sub>70</sub>, cuja média não diferiu estatisticamente entre si e foi de 49,73%. Em D<sub>100</sub> a germinação foi de 44,79% que, estatisticamente, foi a menor

neste procedimento (NI). Para o procedimento I a maior germinação se deu em D<sub>0</sub> (36,75%) e a menor em D<sub>10</sub> (18,27%); em seguida, surgem D<sub>100</sub> (26,44%) e D<sub>70</sub> (30,41%) e D<sub>40</sub> (34,00%) que, estatisticamente, foram distintas, como se apresenta a continuação D<sub>0</sub> > D<sub>40</sub> > D<sub>70</sub> > D<sub>100</sub> > D<sub>10</sub>. Entre os procedimentos dentro de cada dose, a germinação em NI foi, para todas as doses, estatisticamente superior ao procedimento I. No procedimento NI tem-se que as sementes tratadas com o extrato hidroalcoólico de sucupira nas doses de D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub> foram favorecidas quanto a germinação, fato que se deve, provavelmente, ao extrato ter atuado como promotor da quebra de dormência.

**Tabela 4.20** Valores médios da (%) de germinação para a interação Doses x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 5 meses de armazenamento

| Doses (mL)       | Procedimento       |               |
|------------------|--------------------|---------------|
|                  | Não inoculado (NI) | Inoculado (I) |
| D <sub>0</sub>   | 49,16 bA           | 36,75 aB      |
| D <sub>10</sub>  | 51,14 abA          | 18,27 eB      |
| D <sub>40</sub>  | 52,79 aA           | 34,00 bB      |
| D <sub>70</sub>  | 50,31 bA           | 30,41 cB      |
| D <sub>100</sub> | 44,79 cA           | 26,44 dB      |
| DMS (C)          | 2,19               |               |
| DMS (L)          | 1,56               |               |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

O tratamento das sementes no procedimento (NI) não afetou a qualidade fisiológica das sementes nem o procedimento (I), com exceção da dose D<sub>10</sub> onde ocorreu menor índice de germinação. O mesmo pode ser visto no estudo de GONÇALVES et al. (2003) pesquisando sobre o tratamento de sementes de feijão com produtos naturais (cravo da Índia e óleo de dendê) que proporcionaram a preservação da qualidade fisiológica das sementes, exceto para o tratamento com cravo da Índia a 10%, que diminuiu o percentual de germinação.

A inferioridade da germinação no procedimento em que foi inoculado o *Aspergillus flavus* se deve, provavelmente, à contaminação das sementes que por terem sido armazenadas com uma maior população desse fungo, o controle do extrato nas suas doses foi menos eficiente frente às doses no procedimento NI e, sem dúvida, por esses fungos afetarem diretamente a qualidade fisiológica das sementes, de acordo com

CARVALHO & NAKAGAWA (2000), quando afirmam que a ação dos fungos de armazenamento acelera a taxa de deterioração das sementes durante o armazenamento afetando sua viabilidade.

De acordo com os dados da Tabela 4.21, o comportamento da germinação entre os procedimentos NI e I dentro de cada dose se deu com superioridade para o procedimento NI, cuja germinação foi 58,77% superior.

OLIVEIRA et al. (1997) verificaram que os fungos *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. quando associados às sementes de milho, aumentam sua incidência com o tempo de armazenamento e podem causar redução no percentual de germinação.

**Tabela 4.21** Valores médios da (%) de germinação para a interação Tempo x Procedimento de sementes de amendoim da cv. BR1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 5 meses de armazenamento

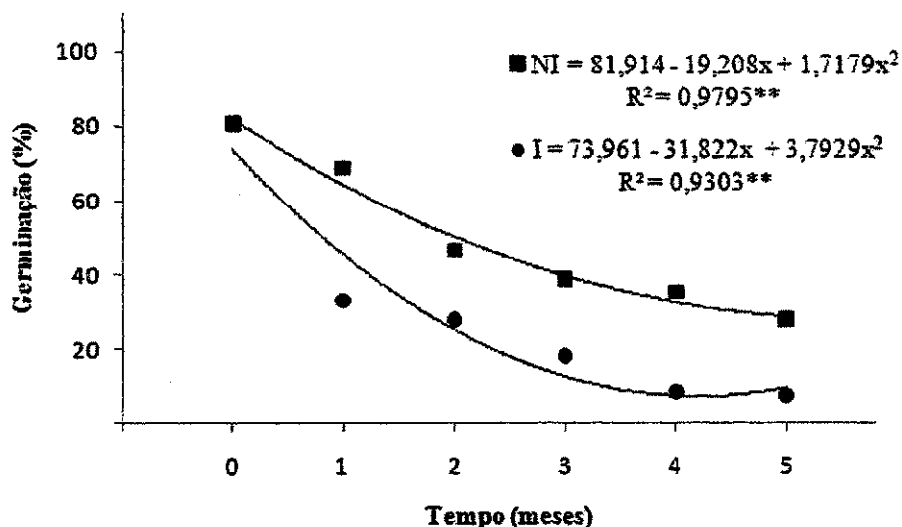
| Tempo (meses)  | Procedimento       |               |
|----------------|--------------------|---------------|
|                | Não inoculado (NI) | Inoculado (I) |
| T <sub>0</sub> | 80,50 A            | 80,50 A       |
| T <sub>1</sub> | 68,80 A            | 32,90 B       |
| T <sub>2</sub> | 46,65 A            | 27,90 B       |
| T <sub>3</sub> | 38,80 A            | 18,21 B       |
| T <sub>4</sub> | 35,20 A            | 8,41 B        |
| T <sub>5</sub> | 27,90 A            | 7,13 B        |
| DMS (L)        | 1,71               |               |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Com relação ao tempo de armazenamento pode-se verificar, na Figura 4.2, que as sementes de amendoim foram perdendo sua viabilidade com o avanço do tempo de armazenamento, independentemente do procedimento aplicado às sementes, entretanto, a germinação nas sementes inoculadas com o *A. flavus* foi inferior à não inoculada, em todos os tempos do armazenamento.

A perda mais acentuada da germinação no procedimento inoculado se deve provavelmente, à invasão de fungos às sementes que podem afetar negativamente sua germinação aos fatores ambientais e à embalagem na qual as sementes foram acondicionadas. Segundo USBERTI & AMARAL (1999), as sementes da maioria das leguminosas normalmente apresentam perda rápida de viabilidade durante o

armazenamento, que é influenciado pelas condições ambientais, teor de umidade e pela aplicação de fungicida.



**Figura 4.2** Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes de amendoim da cv. BR1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 5 meses de armazenamento

Em análise aos dados da Tabela 4.22 pode-se verificar, em  $T_0$ , igualdade estatística entre todas as doses de extrato aplicado, visto ser o período de caracterização das sementes. No  $T_1$  a dose onde as sementes mostraram maior índice de germinação foi em  $D_0$  (56,75%) que foi estatisticamente igual a  $D_{40}$ , seguida de  $D_{70}=D_{100}$ , e a menor germinação ocorreu em  $D_{10}$  (43,68%). Em  $T_2$  a maior germinação ocorreu em  $D_{40}$  (47,37%), seguida de  $D_0=D_{70}$ , e menor índice em  $D_{10}=D_{100}$  (30,12%). Em  $T_3$  pode-se observar maior germinação em  $D_0$  (34,50%) que apresentou igualdade estatística com  $D_{40}$ , sendo  $D_{10}$  a dose onde ocorreu menor germinação (20,77%) e estatisticamente iguala a  $D_{100}$ ; já em  $T_4$  a dose que mostrou menor germinação foi  $D_{100}$  (15,02%) e maior em  $D_0$  (24,75%) que obteve igualdade estatística entre  $D_{40}$  e  $D_{70}$ . De forma similar ocorreu em  $T_5$  com maior germinação em  $D_0$  que foi estatisticamente igual a  $D_{40}$  e  $D_{70}$ , e a menor germinação em  $D_{100}=D_{10}$ .

O emprego de extrato vegetal de sucupira não afetou a germinação das sementes dentro de cada tempo, visto que houve pequenas variações na germinação quando compradas com as sementes que não foram tratadas com o extrato frente às que

receberam tratamento nas suas diferentes doses. SOUZA (2000) afirma que o emprego de produtos de origem vegetal, entre eles extratos e óleos essenciais, no tratamento de sementes, pode afetar o desempenho quanto à sua qualidade fisiológica e sanitária, e serem diferente os efeitos com as espécies vegetais empregadas.

**Tabela 4.22** Valores médios da (%) de germinação para a interação Doses x Tempo de sementes de amendoim da cv. BR1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 5 meses de armazenamento

| Doses<br>(mL)    | Tempo (meses)  |                |                |                |                |                |
|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                  | T <sub>0</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>4</sub> | T <sub>5</sub> |
| D <sub>0</sub>   | 80,50 a        | 56,75 a        | 39,75 b        | 34,50 a        | 24,75 a        | 21,50 a        |
| D <sub>10</sub>  | 80,50 a        | 43,68 c        | 28,50 c        | 20,77 c        | 20,76 b        | 14,02 b        |
| D <sub>40</sub>  | 80,50 a        | 55,00 a        | 47,37 a        | 34,75 a        | 24,00 ab       | 18,75 a        |
| D <sub>70</sub>  | 80,50 a        | 47,93 b        | 39,00 b        | 29,25 b        | 24,50 ab       | 21,00 a        |
| D <sub>100</sub> | 80,50 a        | 50,87 b        | 31,75 c        | 23,25 c        | 15,02 c        | 12,30 b        |
| DMS (C)          | 3,79           |                |                |                |                |                |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O comportamento da germinação das sementes de amendoim tratadas em suas diferentes doses e inoculadas e não inoculadas com o *A. flavus* pode ser descrito pelas equações da ordem de segundo grau (Figura 4.3). Referidas equações representam estatisticamente o comportamento dessas sementes, com R<sup>2</sup> superior a 96%. Verifica-se que houve perda da germinação ao longo do tempo em todas as doses de extrato e que o comportamento da germinação se deu com regularidade, independentemente da dose de extrato aplicada ao longo do tempo em que as sementes permaneceram armazenadas.

Conforme DINGRA (1985) o *A. flavus*, quando inoculado às sementes, causa efeitos como enfraquecimento do embrião seguido de sua morte. BELLETTINI et al. (2005) estudando a patogenidade de fungos associados às sementes de amendoim concluíram que os fungos podem provocar tombamento na pré e pós-emergência das sementes e reduzir drasticamente seu percentual de germinação.

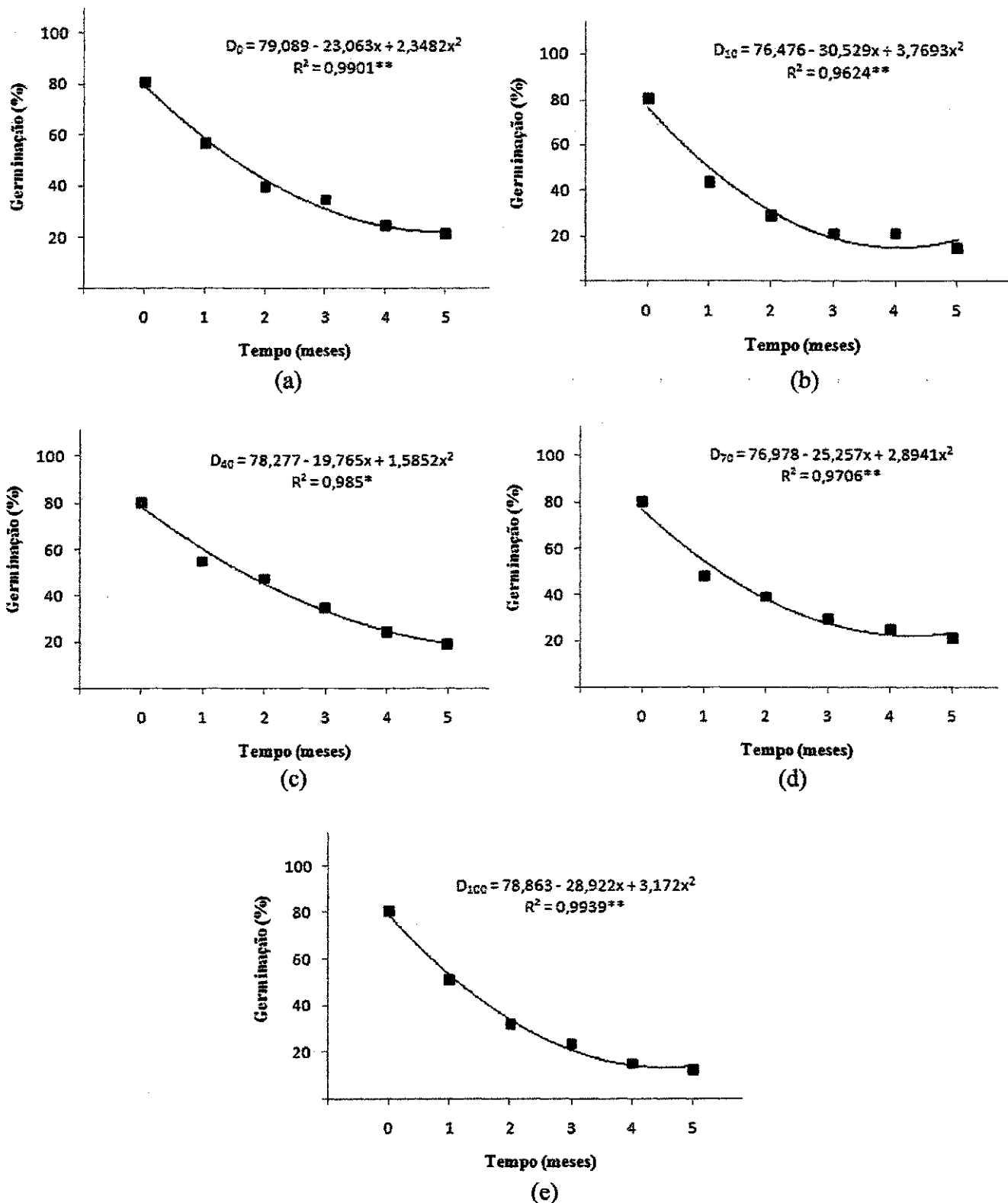


Figura 4.3 Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira (a):  $D_0$ ; (b):  $D_{10}$ ; (c):  $D_{40}$ ; (d):  $D_{70}$ ; (e):  $D_{100}$ , inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 5 meses

## 4.2.2 Armazenamento das sementes fora e dentro do fruto

### 4.2.2.1 Teor de umidade

Pela análise de variância constatou-se que a fonte de variação para extrato, condição de armazenamento, tempo e suas interações, indicou efeito significativo para todos os fatores e suas interações duplas (Tabela A24).

Ante os dados contidos na Tabela 4.23, observam-se pequenas variações quanto ao teor de umidade para a condição fora do fruto (FF), em que D<sub>100</sub> armazenou o amendoim com maior teor de umidade e se revelou estatisticamente igual a D<sub>70</sub>, D<sub>40</sub> e D<sub>10</sub>, diferindo de D<sub>0</sub>. Para a condição dentro do fruto (DF) observa-se igualdade estatística para as doses D<sub>0</sub>, D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub> que armazenaram as sementes com umidade superior (6,80%) às demais doses D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub> (6,62%). Entre procedimento dentro de cada dose ocorreu igualdade estatística para D<sub>0</sub>, D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub>, com maior teor de umidade em D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub> nas sementes DF.

Com base nesses resultados nota-se variação do teor de umidade para os procedimentos DF e FF tanto dentre as doses como entre os procedimentos para cada dose, observação que comunga com os resultados de MORAES (1996), que também constatou variação no teor de umidade da semente de amendoim armazenada dentro e fora do fruto, ao longo do armazenamento.

**Tabela 4.23** Valores médios do teor de umidade (%) para interação Doses x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses

| Doses (mL)       | Condição de armazenamento |                      |
|------------------|---------------------------|----------------------|
|                  | Fora do Fruto (FF)        | Dentro do Fruto (DF) |
| D <sub>0</sub>   | 6,47 bB                   | 6,59 aB              |
| D <sub>10</sub>  | 6,63 abB                  | 6,94 aA              |
| D <sub>40</sub>  | 6,57 abB                  | 6,87 aA              |
| D <sub>70</sub>  | 6,61 abA                  | 6,66 bA              |
| D <sub>100</sub> | 6,67 aA                   | 6,65 bA              |
| DMS (C)          | 0,15                      |                      |
| DMS (L)          | 0,10                      |                      |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

A interação Tempo x Condição de armazenamento (Tabela 4.24) revela, para o teor de umidade entre a condição de armazenamento dentro de cada tempo menor, valores em FF para T<sub>0</sub> e T<sub>5</sub> frente aos valores obtidos em DF; comportamento idêntico ocorreu com T<sub>2</sub> e T<sub>4</sub> em DF, comparado com os obtidos para FF e para os demais tempos não houve diferença estatística das condições para cada uma delas (T<sub>1</sub> e T<sub>3</sub>).

Para cada condição de armazenamento dentro do tempo o teor de umidade em FF foi menor em T<sub>3</sub> e maior em T<sub>0</sub>, seguido de T<sub>1</sub> que, estatisticamente, não diferiu de T<sub>4</sub> e T<sub>5</sub>. No procedimento dentro do fruto (DF) o menor teor de umidade foi obtido em T<sub>4</sub> que se igualou a T<sub>3</sub> e diferiu de T<sub>5</sub>, T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>, sendo T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> diferentes e superiores a T<sub>5</sub>.

**Tabela 4.24** Valores médios do teor de umidade (%) para interação Tempo x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses

| Tempo (meses)  | Procedimento       |                      |
|----------------|--------------------|----------------------|
|                | Fora do fruto (FF) | Dentro do fruto (DF) |
| T <sub>0</sub> | 8,38 aB            | 9,41 aA              |
| T <sub>1</sub> | 6,26 cA            | 6,25 cA              |
| T <sub>2</sub> | 6,57 bA            | 6,20 cB              |
| T <sub>3</sub> | 6,05 dA            | 6,08 cdA             |
| T <sub>4</sub> | 6,19 cdA           | 5,95 dB              |
| T <sub>5</sub> | 6,10 cdB           | 6,56 bA              |
| DMS (C)        | 0,17               |                      |
| DMS (L)        | 0,11               |                      |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Esta variação do teor de umidade quer nas sementes armazenadas FF quer DF, se deve ao fato de que as sementes, mesmo armazenadas dentro do fruto, têm teor de umidade que pode sofrer variações ao longo do armazenamento, desde que as condições de umidade relativa do ar e temperatura também sofram variações. MORAES (1996) armazenando amendoim dentro e fora do fruto observou que o fator beneficiamento não influencia na umidade das sementes armazenadas, dentro ou fora do fruto.

Na Tabela 4.25 se verificam variações do teor de umidade dentro das doses em cada tempo. No tempo inicial a umidade das sementes que não receberam tratamento foi estatisticamente inferior à das demais, na ordem de  $D_{100} < D_{70} < D_{40} < D_{10}$ .

Em T<sub>1</sub> pode-se observar que as doses D<sub>100</sub> e D<sub>40</sub> foram estatisticamente iguais e  $D_{40} = D_0 = D_{10} = D_{70}$ . Nos tempos T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> tem-se o mesmo teor de umidade em todas as



doses, isto é, não houve efeito da dose para esta variável; já em T<sub>4</sub> a dose D<sub>0</sub> foi estatisticamente igual a D<sub>100</sub> em que as sementes mantiveram maior teor de umidade e o menor teor em D<sub>10</sub> que foi estatisticamente igual a D<sub>40</sub> e D<sub>70</sub>. Isoladamente, em T<sub>5</sub> a dose D<sub>0</sub> armazenou as sementes do amendoim com menor teor de umidade (6,14%) e T<sub>70</sub> com o maior teor de umidade (6,47%).

Esta variação, ocorrida entre alguns meses de armazenamento e as doses de extrato aplicadas às sementes, pode mais uma vez ser evidenciada por provável influência das condições ambientais do meio de armazenamento sobre o teor de umidade das sementes e estas, por serem higroscópicas, podem absorver umidade do meio dependendo das condições perderem água, até atingirem equilíbrio.

**Tabela 4.25** Valores médios do teor de umidade (%) para interação Doses x Tempo das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses

| Doses<br>(mL)    | Tempo (meses)  |                |                |                |                |                |
|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                  | T <sub>0</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>4</sub> | T <sub>5</sub> |
| D <sub>0</sub>   | 8,01 eA        | 6,17bC         | 6,49 aB        | 6,10 aC        | 6,28 aBC       | 6,14 bC        |
| D <sub>10</sub>  | 9,85 aA        | 6,08 bC        | 6,41 aB        | 6,05 aC        | 5,93 cC        | 6,38 abB       |
| D <sub>40</sub>  | 9,41 bA        | 6,31 abB       | 6,27 aB        | 6,07 aBC       | 5,95 bcC       | 6,31 abB       |
| D <sub>70</sub>  | 8,76 cA        | 6,16 bCD       | 6,37 aBC       | 6,08 aD        | 5,99 bcC       | 6,47 aB        |
| D <sub>100</sub> | 8,44 dA        | 6,55 aB        | 6,40 aBC       | 6,05 aD        | 6,20abCD       | 6,35 abBC      |
| DMS (C)          | 0,26           |                |                |                |                |                |
| DMS (L)          | 0,27           |                |                |                |                |                |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

#### 4.2.2.2 Incidência de fungos

Os resultados da análise de variância da incidência de fungos para as sementes de amendoim armazenadas mostraram efeito significativo para todos os fatores e suas interações duplas, à exceção do *Penicillium*, que só obteve efeito significativo para Doses x Tempo (Tabela A25 a A28).

Na Tabela 4.26 pode-se verificar, para as sementes armazenadas fora do fruto (FF), que a aplicação do extrato de sucupira reduziu a incidência de *A. flavus*, de modo que D<sub>0</sub> foi estatisticamente igual a D<sub>10</sub> e superior às demais doses, com igualdade estatística de D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub>, que diferiu de D<sub>40</sub>, ocorrendo a menor incidência deste fungo

(56,25%). Com relação às sementes armazenadas dentro do fruto (DF) na dose D<sub>0</sub> ocorreu a maior incidência, superando estatisticamente as demais doses, nas quais não houve diferença quanto à incidência de fungos, ou seja, estabeleceu-se igualdade estatística (2,26%).

A incidência de *A. niger* nas sementes armazenadas FF deu-se com igualdade estatística nas doses D<sub>0</sub>, D<sub>40</sub> e D<sub>70</sub>, que foram superiores a D<sub>10</sub> e D<sub>100</sub> (com ocorrência de menor incidência deste fungo); entretanto, para as sementes que foram armazenadas DF não houve diferença estatística das doses na incidência desse fungo.

**Tabela 4.26** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses

| Doses<br>(mL)    | Condição de armazenamento |         |                 |         |                |          |    |  |
|------------------|---------------------------|---------|-----------------|---------|----------------|----------|----|--|
|                  | FF                        |         | DF              |         | FF             |          | DF |  |
|                  | <i>A. flavus</i>          |         | <i>A. niger</i> |         | <i>Rizopus</i> |          |    |  |
| D <sub>0</sub>   | 72,50 aA                  | 9,20 aB | 28,33 aA        | 5,47 aB | 28,35 aA       | 0,00 dB  |    |  |
| D <sub>10</sub>  | 72,08 aA                  | 4,22 bB | 18,34 bA        | 2,58 aB | 25,01 bA       | 8,38 aB  |    |  |
| D <sub>40</sub>  | 56,25 cA                  | 0,92 bB | 27,91 aA        | 2,58 aB | 16,30 cA       | 2,57 cdB |    |  |
| D <sub>70</sub>  | 65,00 bA                  | 2,16 bB | 27,91 aA        | 4,65 aB | 22,10 bA       | 4,23 bcB |    |  |
| D <sub>100</sub> | 63,33 bA                  | 1,75bB  | 12,52 cA        | 2,58 aB | 12,15dA        | 6,73abB  |    |  |
| DMS (C)          | 4,31                      |         | 4,31            |         | 3,03           |          |    |  |
| DMS (L)          | 3,08                      |         | 3,08            |         | 2,16           |          |    |  |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; FF: sementes armazenadas fora do fruto; DF: sementes armazenadas dentro do fruto

Para as sementes armazenadas FF, a utilização do extrato em suas diferentes doses foi eficiente na redução de *Rhizopus* frente às sementes que não receberam tratamento, ou seja, em D<sub>0</sub> ocorreu a maior incidência desse fungo, as doses D<sub>10</sub> e D<sub>70</sub> foram estatisticamente iguais e superiores a D<sub>40</sub> e a D<sub>100</sub>; verificou-se a menor incidência de *Rhizopus*, porém isto não foi constatado quando as sementes foram armazenadas DF, de modo que em D<sub>0</sub> não houve ocorrência deste fungo, estando presente nas demais doses, em maior incidência em D<sub>10</sub> e D<sub>100</sub>, as quais foram estatisticamente iguais.

Observa-se, no entanto, diferença estatística entre a condição de armazenamento para cada dose em que a maior incidência de *A. flavus*, *A. niger* e *Rhizopus* se deu nas sementes de amendoim armazenadas FF. Constata-se, pelos resultados, a importância do controle desses fungos para a condição DF, visto que o tratamento das sementes com o

extrato de sucupira em qualquer dose controlou, com muita eficiência, a incidência dos fungos nessas condições comparado com a FF. Esses resultados se justificam, em parte, com os obtidos com a cv. BRS Havana (Tabela 4.12), em que se verificou o controle da incidência de fungos, principalmente do *A. flavus* na condição DF.

Examinando a Tabela 4.27 verifica-se, para o tempo dentro de cada condição de armazenamento, que a incidência de *A. flavus* nas sementes de amendoim armazenadas FF se deu de forma crescente com o tempo de armazenamento, em que T<sub>0</sub> foi estatisticamente inferior aos demais tempos, ocorrendo igualdade estatística em T<sub>4</sub> e T<sub>5</sub>. Para este mesmo fungo, nas sementes armazenadas DF o tempo inicial (T<sub>0</sub>) foi estatisticamente igual a T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>, com inferioridade estatística para resultados obtidos em T<sub>5</sub>, quando ocorreu a maior incidência de *A. flavus*.

Para *A. niger* na condição FF a incidência ocorreu com inferioridade estatística isolada em T<sub>3</sub> frente às demais doses, que apresentaram maior incidência desses fungos, e com as sementes armazenadas dentro do fruto (DF) à exceção de T<sub>0</sub>, todos os outros tempos armazenaram as sementes igualmente com o mesmo percentual de incidência do *A. flavus* o que não ocorreu em T<sub>5</sub>.

**Tabela 4.27** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Tempo x Condição de armazenamento das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora, do fruto durante 5 meses

| Tempo (meses)  | Condição de Armazenamento |         |                 |          |                |          |    |  |
|----------------|---------------------------|---------|-----------------|----------|----------------|----------|----|--|
|                | FF                        |         | DF              |          | FF             |          | DF |  |
|                | <i>A. flavus</i>          |         | <i>A. niger</i> |          | <i>Rizopus</i> |          |    |  |
| T <sub>0</sub> | 40,00 eA                  | 0,00 bB | 25,00 aA        | 15,00 aB | 22,50 bA       | 0,00 cB  |    |  |
| T <sub>1</sub> | 57,50 dA                  | 3,07 bB | 22,51 abA       | 3,57 bB  | 2,08 eB        | 7,05 aA  |    |  |
| T <sub>2</sub> | 65,00 cA                  | 3,07 bB | 24,00 aA        | 1,09 bB  | 14,04 cA       | 3,07 bcB |    |  |
| T <sub>3</sub> | 72,00 bA                  | 2,58 bB | 19,00 bA        | 0,59 bB  | 7,56 dA        | 5,57 abA |    |  |
| T <sub>4</sub> | 80,00 aA                  | 4,06 bB | 22,52 abA       | 1,09 bB  | 20,02 bA       | 6,56 aB  |    |  |
| T <sub>5</sub> | 80,50 aA                  | 9,05 aB | 25,01 aA        | 0,00 bB  | 58,50 aA       | 4,08 abB |    |  |
| DMS (C)        | 4,94                      |         | 4,93            |          | 3,47           |          |    |  |
| DMS (L)        | 3,38                      |         | 3,38            |          | 2,37           |          |    |  |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; FF: sementes armazenadas fora do fruto; DF: sementes armazenadas dentro do fruto

Quanto ao *Rhizopus*, nas sementes FF a menor incidência foi em T<sub>1</sub> seguida de T<sub>3</sub> e T<sub>2</sub> e a maior em T<sub>5</sub> seguida de T<sub>4</sub> e T<sub>0</sub>. Para a condição DF, em T<sub>0</sub> não se registrou a ocorrência deste fungo, e T<sub>2</sub> armazenou as sementes de amendoim com menor

incidência isolando-se dos demais tempos que se comportaram iguais conforme revelado pela estatística.

Quanto à incidência de *A. flavus*, *A. niger* e *Rhizopus* observa-se entre as condições de armazenamento, que as médias do fator tempo diferem estaticamente, e a incidência desses fungos, à exceção de T<sub>3</sub> para *Rhizopus*, foi inferior na condição dentro do fruto (DF).

O armazenamento das sementes de amendoim dentro do fruto contribui para a redução da incidência de fungos, fato também verificado para a cv. BRS Havana, conforme Tabela 4.12, apoiando os resultados apresentados para a cv. BR 1.

Em observação aos dados contidos na Tabela 4.28, constata-se comportamento semelhante para os fungos (*A. flavus*, *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium*) entre todas as doses dentro de T<sub>0</sub>, visto que este foi o período de caracterização das sementes. Em T<sub>1</sub>, o maior controle de *A. flavus* se verifica em D<sub>40</sub>, D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub> com igualdade estatística. No T<sub>2</sub> a dose D<sub>70</sub> foi a de maior incidência, superando as demais estatisticamente e D<sub>40</sub> a de menor incidência. No tempo T<sub>3</sub> ocorreu igualdade estatística entre D<sub>0</sub> e D<sub>10</sub>, com maior incidência, e em D<sub>40</sub>, D<sub>70</sub> e D<sub>100</sub> se comportaram estaticamente iguais. No tempo T<sub>4</sub>, a dose D<sub>40</sub> foi inferior às demais doses e em T<sub>5</sub> se verifica diferença estatística entre todas as doses, exceto em D<sub>10</sub> e D<sub>100</sub>, tendo as sementes que receberam tratamento com extrato de sucupira menor incidência de fungos, diminuindo com o aumento das doses.

Com relação ao *A. niger*, sua menor incidência ocorreu em T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> com a dose D<sub>100</sub> em comparação com as demais; em T<sub>5</sub>, D<sub>10</sub> foi onde ocorreu a menor incidência deste fungo. Para o *Rhizopus* não houve incidência em T<sub>2</sub> e T<sub>4</sub> na dose D<sub>100</sub> e em T<sub>3</sub> com as doses D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub>. Em T<sub>5</sub>, nas doses D<sub>0</sub> e D<sub>10</sub> armazenaram as sementes de amendoim com maior incidência e superioridade às demais doses que também se igualaram estatisticamente.

Quanto ao *Penicillium*, sua incidência é observada a partir de T<sub>2</sub>, nas doses D<sub>40</sub> e D<sub>70</sub>; já em T<sub>3</sub> tem-se, em D<sub>0</sub>, D<sub>10</sub> e D<sub>70</sub> e depois de 4 meses de armazenamento (T<sub>4</sub>) que somente em D<sub>40</sub> não se registrou incidência de *Penicillium*; nas demais doses a incidência apresentou igualdade estatística, mas as maiores incidências ocorreram em T<sub>5</sub>, com igualdade em todas as doses.

**Tabela 4.28** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação Doses x Tempo de sementes de amendoim tratadas da cv. BR 1 com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses

| Doses (mL)         | Tempo (meses) |           |             |           |            |            |
|--------------------|---------------|-----------|-------------|-----------|------------|------------|
|                    | 0             | 1         | 2           | 3         | 4          | 5          |
| <i>A. flavus</i>   |               |           |             |           |            |            |
| D <sub>0</sub>     | 20,05 aE      | 36,28 aCD | 33,78 bD    | 48,70 aB  | 42,50 aBC  | 63,75 aA   |
| D <sub>10</sub>    | 20,05 aC      | 36,25 abB | 33,78 bB    | 45,05 aA  | 46,27 aA   | 47,52 bA   |
| D <sub>40</sub>    | 20,05 aD      | 23,80 cCD | 23,80 cCD   | 32,55 bAB | 31,28 bBC  | 40,03 cA   |
| D <sub>70</sub>    | 20,05 aC      | 28,80 bcB | 45,02 aA    | 32,55 bB  | 43,80 aA   | 31,27 dB   |
| D <sub>100</sub>   | 20,05 aD      | 26,30 cCD | 33,77 bBC   | 27,55 bCD | 46,28 aA   | 41,28 bcAB |
| DMS (C)            | 7,47          |           |             |           |            |            |
| DMS (L)            | 7,81          |           |             |           |            |            |
| <i>A. Niger</i>    |               |           |             |           |            |            |
| D <sub>0</sub>     | 20,00 aA      | 16,27 abA | 16,27 abA   | 12,53 aA  | 17,52 aA   | 18,80 aA   |
| D <sub>10</sub>    | 20,00 aA      | 12,55 bAB | 12,55 abcAB | 7,55 abBC | 7,55 bBC   | 2,57 bC    |
| D <sub>40</sub>    | 20,00 aA      | 12,55 bAB | 17,55 aAB   | 10,05 abB | 18,80 aA   | 12,55 aAB  |
| D <sub>70</sub>    | 20,00 aAB     | 22,50 aA  | 10,05 bcC   | 13,80 aBC | 15,05 aABC | 16,30 aABC |
| D <sub>100</sub>   | 20,00 aA      | 1,33 cC   | 6,30cBC     | 5,05 bBC  | 0,00 bC    | 12,55 aAB  |
| DMS (C)            | 7,46          |           |             |           |            |            |
| DMS (L)            | 7,80          |           |             |           |            |            |
| <i>Rhizopus</i>    |               |           |             |           |            |            |
| D <sub>0</sub>     | 11,30 aB      | 0,00 bC   | 12,55 aB    | 10,05 aB  | 11,30 bB   | 40,05 aA   |
| D <sub>10</sub>    | 11,30 aC      | 5,05 abD  | 12,50 aC    | 0,00 bD   | 27,50 aB   | 43,75 aA   |
| D <sub>40</sub>    | 11,30 aB      | 2,57 bC   | 2,57 bC     | 0,00 bC   | 15,02 bB   | 25,05 bA   |
| D <sub>70</sub>    | 11,30 aB      | 5,05 abC  | 15,05 aB    | 12,52 aB  | 12,52 bB   | 22,55 bA   |
| D <sub>100</sub>   | 11,30 aB      | 10,05 aB  | 0,00 bC     | 10,05 aB  | 0,00 cC    | 25,05 bA   |
| DMS (C)            | 5,24          |           |             |           |            |            |
| DMS (L)            | 5,48          |           |             |           |            |            |
| <i>Penicillium</i> |               |           |             |           |            |            |
| D <sub>0</sub>     | 0,00 aB       | 0,00 aB   | 0,00 cB     | 15,00 Aa  | 17,50 bA   | 15,00 bcA  |
| D <sub>10</sub>    | 0,00 aB       | 0,00 aB   | 0,00 cB     | 10,00 Aa  | 15,00 bA   | 15,00 bcA  |
| D <sub>40</sub>    | 0,00 aB       | 0,00 aB   | 17,50 aA    | 0,00 bB   | 0,00 cB    | 17,50 bA   |
| D <sub>70</sub>    | 0,00 aB       | 0,00 aB   | 10,00 bA    | 10,00 Aa  | 12,50 bA   | 10,00 cA   |
| D <sub>100</sub>   | 0,00 aB       | 0,00 aB   | 0,00 cB     | 0,00 bB   | 35,00 aA   | 35,00 aA   |
| DMS (C)            | 7,48          |           |             |           |            |            |
| DMS (L)            | 7,82          |           |             |           |            |            |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Para o fator tempo verificou-se, de forma geral, que o crescimento da micoflora das sementes de amendoim armazenadas aumentou com o decorrer do tempo de armazenamento, em todas as doses de extrato utilizadas.

Esses resultados se confirmam com os da cv. BRS Havana, quando se verificou que a aplicação de extratos vegetais pode contribuir, de forma positiva, para algumas espécies de fungos e, de forma negativa, para outras espécies, visto que cada espécie

fúngica possui suas peculiaridades quanto ao substrato, temperatura e umidade ótima para desenvolvimento. Ademais, com o passar do tempo de armazenamento pode ocorrer redução dos princípios ativos, reduzindo a eficiência dos extratos no controle de fungos.

#### 4.2.2.3 Germinação

A análise de variância da porcentagem de germinação referente à condição de armazenamento (dentro e fora do fruto), doses do extrato hidroalcoólico de sucupira e tempo para as sementes de amendoim armazenadas durante 5 meses, encontra-se na Tabela A32, na qual se observa efeito significativo para todos os fatores e suas interações duplas. Para o fator quantitativo (período de armazenamento) a análise ocorreu por regressão (Tabela A30 a A36).

Conforme dados da Tabela 4.29 (Doses x Procedimento) observou-se, para as sementes armazenadas FF, igualdade estatística entre as doses D<sub>10</sub> e D<sub>40</sub> (51,96%), os quais foram maiores que a germinação obtida com as demais doses, que também se igualaram estatisticamente e que as sementes, quando armazenadas dentro do fruto não sofreram influência das condições de armazenamento impostas pelas doses, isto é, a germinação (98,25%) foi estatisticamente igual em todas as doses.

Observando os valores absolutos das médias de germinação para a condição a que foram submetidas as sementes dentro e fora do fruto, verifica-se maior germinação em D<sub>40</sub> com 52,79% para FF e 98,75% em D<sub>100</sub> para DF, seguida de D<sub>10</sub> (51,14%) e D<sub>40</sub> (98,58%), respectivamente para a condição a que foram submetidas, e em ordem de apresentação (FF – DF).

A superioridade da germinação das sementes tratadas com o extrato hidroalcoólico de sucupira armazenadas dentro do fruto (DF), se deve principalmente à proteção que a casca proporcionou para o não desenvolvimento de pragas e micro-organismos e, provavelmente, inibiu processos metabólicos.

Os resultados obtidos neste trabalho para o amendoim armazenado fora do fruto, revelaram maior incidência de fungos às sementes fora do fruto, o que pode ter sido uma das causas da perda maior de germinação dessas sementes pois, segundo NEERGAARD (1979), os fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* são considerados típicos de armazenamento e podem afetar a germinação das sementes.

**Tabela 4.29** Valores médios da (%) de germinação para a interação Doses x Condição de armazenamento das sementes de amendoim tratadas da cv. BR 1 com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto durante 5 meses

| Doses (mL)       | Condição de armazenamento |                      |
|------------------|---------------------------|----------------------|
|                  | Fora do fruto (FF)        | Dentro do fruto (DF) |
| D <sub>0</sub>   | 49,16 cB                  | 97,83 aA             |
| D <sub>10</sub>  | 51,14 abB                 | 98,33 aA             |
| D <sub>40</sub>  | 52,79 aB                  | 98,58 aA             |
| D <sub>70</sub>  | 50,31 bcB                 | 97,75 aA             |
| D <sub>100</sub> | 44,79 dB                  | 98,75 aA             |
| DMS (C)          | 1,97                      |                      |
| DMS (L)          | 1,41                      |                      |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

De acordo com os dados da Tabela 4.30, pode-se observar que o comportamento da germinação entre as condições de armazenamento dentro de cada tempo se deu com superioridade para as sementes armazenadas DF, em que a germinação foi 50,52% superior a condição FF. Resultados similares foram obtidos por MORAES (1996) que também verificou que as sementes de amendoim quando armazenadas dentro do fruto, conservaram sua viabilidade bem mais que aquelas armazenadas fora do fruto.

**Tabela 4.30** Valores médios da (%) de germinação para a interação Tempo x Condição de armazenamento das sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses

| Tempo (meses)  | Condição de armazenamento |                      |
|----------------|---------------------------|----------------------|
|                | Fora do fruto (FF)        | Dentro do fruto (DF) |
| T <sub>0</sub> | 80,50 B                   | 100,00 A             |
| T <sub>1</sub> | 68,80 B                   | 99,40 A              |
| T <sub>2</sub> | 46,65 B                   | 96,80 A              |
| T <sub>3</sub> | 38,80 B                   | 97,00 A              |
| T <sub>4</sub> | 35,20 B                   | 97,90 A              |
| T <sub>5</sub> | 27,90 B                   | 98,30 A              |
| DMS (L)        | 1,54                      |                      |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Com relação ao fator tempo verifica-se na Figura 4.4 que as sementes de amendoim quando armazenadas fora do fruto foram perdendo sua viabilidade com o avanço do tempo de armazenamento, independentemente do tratamento aplicado às

sementes como também da proporção de extrato aplicado, as quais obtiveram, em média, germinação de 49,64%. Tratando-se das armazenadas dentro do fruto, verifica-se que mantiveram sua germinação durante o armazenamento, em torno de 98,25%.

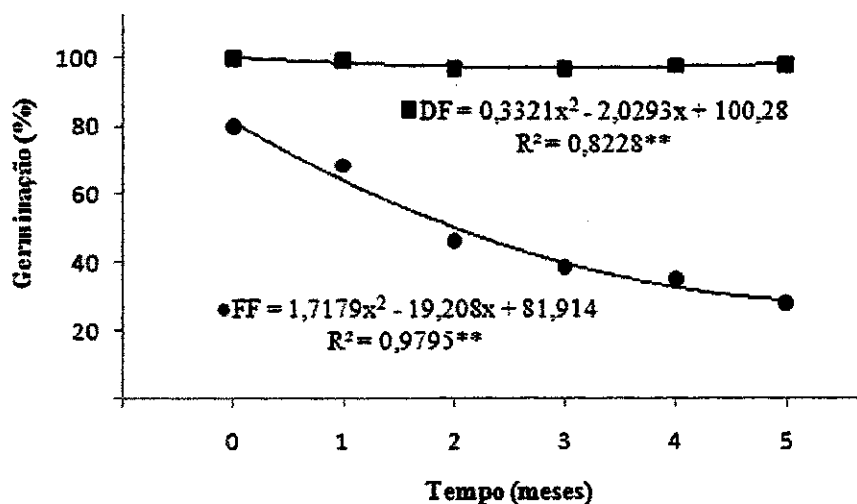


Figura 4.4 Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses

O armazenamento das sementes de amendoim em casca constitui uma forma importante da conservação da qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento, de forma que esta condição protege as sementes contra fatores desfavoráveis. Conforme verificado na incidência de fungos, a vagem (casca) confere maior proteção à invasão de fungos, o que também pode contribuir de forma positiva para esta “preservação” da germinação das sementes quando armazenadas no fruto. Esses dados encontram apoio no trabalho de AZEREDO et al. (2005) que, estudando a qualidade fisiológica de sementes de amendoim armazenadas dentro e fora do fruto, verificaram que as sementes, quando mantidas fora do fruto e acondicionadas em embalagem metálica em ambiente não controlado, perderam acentuadamente sua emergência após seis meses enquanto as conservadas dentro do fruto mantiveram sua emergência ao longo do armazenamento.

Em análise aos dados contidos na Tabela 4.31 constata-se, em  $T_0$ , igualdade estatística entre todas as doses de extrato aplicado, visto ser o período de caracterização das sementes. Em  $T_1$ , as sementes que mostraram maiores valores de germinação foram



a D<sub>0</sub> (89,00%), seguida de D<sub>10</sub> que foi estatisticamente igual a D<sub>40</sub> e D<sub>100</sub>. Em T<sub>2</sub> D<sub>40</sub> apresentou superioridade estatística isolada frente às demais doses e o menor índice de germinação foi observado em D<sub>0</sub> (68,00%). No T<sub>3</sub> pode-se verificar igualdade estatística entre D<sub>0</sub>=D<sub>10</sub>=D<sub>40</sub>=D<sub>70</sub> superiores a D<sub>100</sub>, quando ocorreu menor germinação (64,00%). Em T<sub>4</sub> a dose na qual se verificou menor germinação, foi em D<sub>0</sub> (64,00%) que foi estatisticamente igual a D<sub>100</sub>, e maior em D<sub>70</sub> que obteve igualdade estatística com a D<sub>40</sub>=D<sub>10</sub>; já no T<sub>5</sub> pode-se observar pequena variação na germinação entre todas as doses de extrato aplicado, de modo que D<sub>70</sub>=D<sub>40</sub>=D<sub>10</sub>, e D<sub>0</sub>=D<sub>100</sub>=D<sub>10</sub>=D<sub>40</sub>.

De modo geral, a aplicação do extrato vegetal de sucupira não afetou, de forma negativa, a qualidade fisiológica das sementes de amendoim armazenadas dentro e fora do fruto.

**Tabela 4.31** Valores médios da (%) de germinação para a interação Doses x Tempo de sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses

| Doses<br>(mL)    | Tempo (meses)  |                |                |                |                |                |
|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                  | T <sub>0</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>4</sub> | T <sub>5</sub> |
| D <sub>0</sub>   | 90,25 a        | 89,00 a        | 68,00 d        | 68,00 a        | 64,00 b        | 61,75 b        |
| D <sub>10</sub>  | 90,25 a        | 84,68 b        | 73,75 ab       | 69,00 a        | 68,00 a        | 62,75 ab       |
| D <sub>40</sub>  | 90,25 a        | 83,50 bc       | 77,12 a        | 70,50 a        | 69,25 a        | 63,50 ab       |
| D <sub>70</sub>  | 90,25 a        | 80,68 c        | 71,50 bc       | 68,00 a        | 68,00 a        | 65,75 a        |
| D <sub>100</sub> | 90,25 a        | 82,62 bc       | 68,50 cd       | 64,00 b        | 63,50 b        | 61,75 b        |
| DMS (C)          | 3,42           |                |                |                |                |                |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

A Figura 4.5 representa o comportamento da germinação das sementes de amendoim armazenadas dentro e fora do fruto e tratadas com diferentes doses de extrato vegetal de sucupira. Este comportamento pode ser descrito pelas equações da ordem de primeiro grau. Verifica-se que houve perda da germinação ao longo do tempo independentemente da dose de extrato aplicada.

FLORES et al. (1993) verificaram, em sementes de feijão tratadas com extrato de pimenta do reino em diferentes concentrações durante 90 dias de armazenamento, que a viabilidade das sementes decresceu com o aumento das concentrações do extrato.

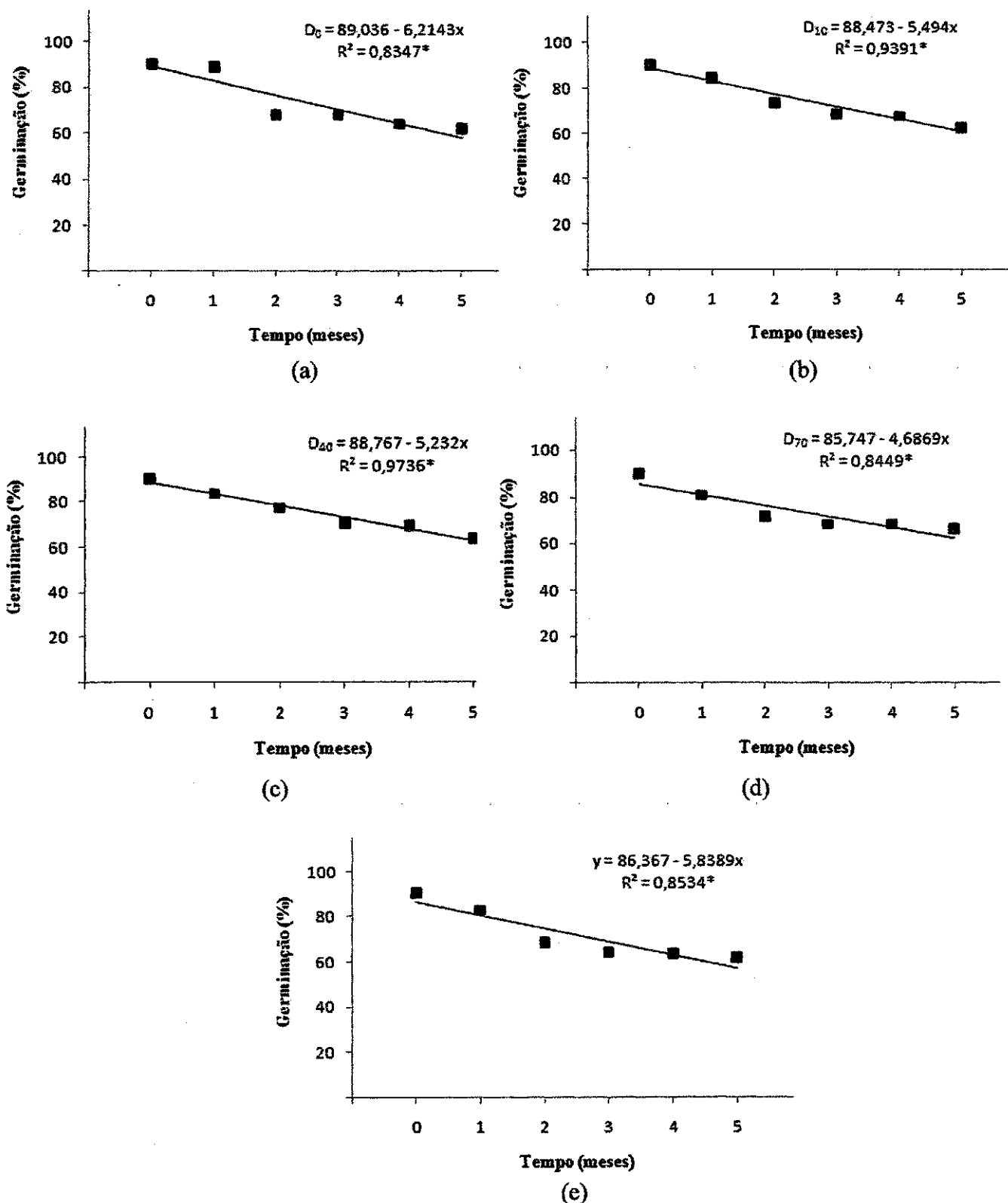


Figura 4.5 Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira (a):  $D_0$ ; (b):  $D_{10}$ ; (c):  $D_{40}$ ; (d):  $D_{70}$ ; (e):  $D_{100}$ , armazenadas dentro e fora do fruto, durante 5 meses

Contudo, GOLDFARB (1997) trabalhando com sementes de milho com extratos vegetais de pimenta do reino, laranja, cróton e crisântemo, verificou que as sementes não perderam porcentagem significativa de germinação e vigor, durante o período em que permaneceram armazenadas.

### 4.3 Terceiro experimento - Crioconservação

#### 4.3.1 Teor de umidade

Os resultados da análise de variância e o coeficiente de variação referentes à condição de armazenamento e tempo para o teor de umidade das sementes de amendoim armazenadas em ambiente natural e no nitrogênio líquido (crioconservadas) se encontram na Tabela A37 do apêndice, observando-se efeito significativo para todos os fatores e sua interação dupla.

Examinando a Tabela 4.32 verifica-se, com exceção do  $T_{12}$  e  $T_0$ , onde não se registra diferença estatística para condição de armazenamento entre crioconservadas e ambiente natural, que as sementes armazenadas em AN se mantiveram com teor de umidade superior em aproximadamente 24,19% comparando-se com as sementes crioconservadas, fato que, em parte, se deve à manutenção das sementes a temperatura de  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  na qual suas atividades são praticamente paralisadas (ALMEIDA et al., 2000) e, também a que, nessas condições, os fatores do meio como temperatura e umidade relativa do ar, que são promotores de variação na umidade da semente, são mantidos constantes nesta condição de armazenamento (ALMEIDA et al., 2002).

Para a umidade das sementes crioconservadas em cada tempo de armazenamento, observa-se igualdade estatística para os tempos  $T_4$ ,  $T_6$ ,  $T_8$  e  $T_{10}$ , e também entre  $T_0$ ,  $T_2$ ,  $T_4$  e  $T_6$ , os quais foram todos estatisticamente inferiores a  $T_{12}$ . Este comportamento se deve, provavelmente, em virtude de ser este o período requerido pelas sementes para se acomodarem com a nova condição ( $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), afirmativa que se apoia nas observações de ALMEIDA et al. (2000) quando afirmaram que o teor de umidade das sementes pode flutuar um pouco para mais ou para menos dependendo da taxa de congelamento até uniformidade com o meio. Para a condição de ambiente natural a variação do teor de umidade dentro de cada tempo se deve, principalmente às variações de temperatura e

umidade relativa ocorridas no período de armazenamento, em que  $T_2$ ,  $T_{10}$  e  $T_{12}$  as sementes se mantiveram com menor teor de umidade, seguidos de  $T_0$  que, estatisticamente, foi menor e diferente de  $T_6$  e  $T_4$ , em que o teor de umidade foi igual. Salienta-se ainda, durante a caracterização para o início do armazenamento ( $T_0$ ) que a umidade das sementes era de 4,05%, teor de umidade este inferior ao dos demais tempos.

**Tabela 4.32** Valores médios do teor de umidade (%) das sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| Tempo (meses) | Condição de armazenamento |                       |
|---------------|---------------------------|-----------------------|
|               | Crioconservadas (C)       | Ambiente natural (AN) |
| $T_0$         | 4,85 cA                   | 4,85 dA               |
| $T_2$         | 4,87 cB                   | 6,28 cA               |
| $T_4$         | 5,09 bcB                  | 8,45 aA               |
| $T_6$         | 5,16 bcB                  | 8,62 aA               |
| $T_8$         | 5,44 bB                   | 8,00 bA               |
| $T_{10}$      | 5,45 bB                   | 6,53 cA               |
| $T_{12}$      | 6,34 aA                   | 6,34 cA               |
| DMS (C)       |                           | 0,38                  |
| DMS (L)       |                           | 0,24                  |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

### 4.3.2 Germinação

A análise de variância correspondente à porcentagem de germinação obtida em função das sementes armazenadas em ambiente natural e imersas totalmente no nitrogênio líquido (crioconservadas) durante 4 tempos de armazenamento, se encontram na Tabela A38, observando-se efeito significativo para todos os fatores e sua interação dupla. Para o fator quantitativo (período de armazenamento) a análise deu-se por regressão (Tabela A39 e A40).

Mediante os dados da Tabela 4.33, nota-se que as sementes armazenadas no nitrogênio líquido não sofreram perda de germinação durante o armazenamento, diferentemente do ambiente natural, em que a perda foi de 70%, passando de 83,50% de germinação no início do armazenamento para 13,50% depois de seis meses.

Salienta-se que, para as sementes crioconservadas a germinação se manteve durante todo o tempo do experimento (12 meses) e que se utilizou, para a análise estatística, o tempo de seis meses, em virtude das sementes no ambiente natural não terem apresentado germinação aos oito meses ( $T_8$ ) de armazenagem, mas apresentaram média e variância igual a zero, influenciando diretamente a homogeneidade das variâncias dos tratamentos, sendo recomendada a omissão desses dados na análise de variância (COCHRAN, 1947).

**Tabela 4.33** Valores médios da (%) de germinação das sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| Tempo (meses) | Condição de armazenamento |                       |
|---------------|---------------------------|-----------------------|
|               | Crioconservadas (C)       | Ambiente natural (AN) |
| $T_0$         | 83,50 A                   | 83,50 A               |
| $T_2$         | 83,00 A                   | 59,00 B               |
| $T_4$         | 81,00 A                   | 41,00 B               |
| $T_6$         | 81,00 A                   | 13,50 B               |
| DMS (L)       | 3,63                      |                       |

As médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Depois de submeter os dados a análise de regressão na variação, optou-se pelo efeito linear, em virtude da significância e maior coeficiente de correlação ( $R^2$ ), o qual foi de 86% para as sementes crioconservadas e de 99,4% para as armazenadas em ambiente natural (Figura 4.6).

O comportamento da germinação do amendoim crioconservado sem diminuição significativa até o final do período de armazenamento se deve ao fato de que nas sementes mantidas com baixo conteúdo de umidade (5,31%) a baixas temperaturas (-196 °C), teoricamente o período de conservação pode ser incrementado por cem e milhares de anos, conforme estudos de ROBERTS (1973), enquanto a perda linear da germinação das sementes armazenadas em ambiente natural é devida ao fato das mesmas pertencerem à categoria dos produtos deterioráveis, processo este irreversível e que, se não evitado e controlado, pode levar à morte das sementes (plântula) em pouco tempo (ALMEIDA, 2006). Esses resultados encontram apoio no trabalho de JERÔNIMO (2005) que crioarmazenou 5 espécies de oleaginosas e verificou que para as sementes de amendoim existe a perda da germinação quando armazenadas em

ambiente natural enquanto as armazenadas em nitrogênio líquido mantiveram sua germinação inicial.

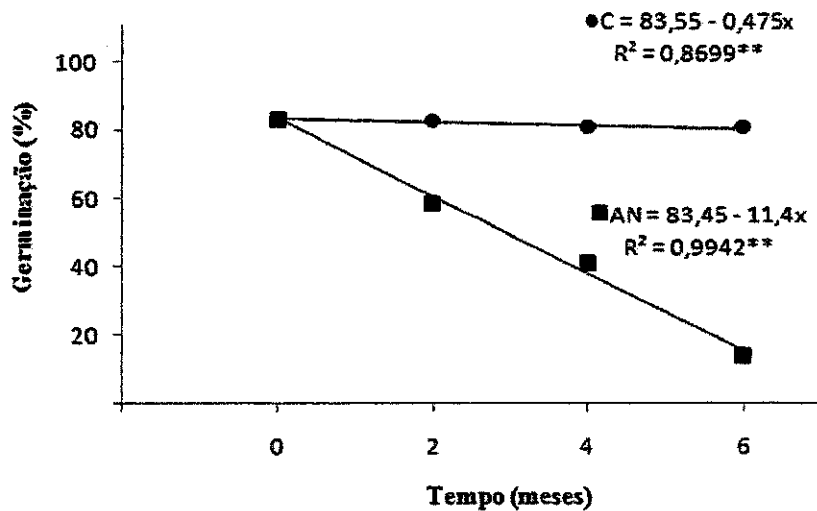


Figura 4.6 Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas (C) e armazenadas em ambiente natural (AN) por 6 meses

### c) Vigor - Comprimento e matéria seca das plântulas

Os resultados da análise de variância para o comprimento e matéria seca das plântulas frente ao tempo de armazenamento encontram-se nas Tabelas A41 e A44 do apêndice, nas quais foi revelado efeito significativo para todos os fatores e sua interação dupla. Para o fator quantitativo (período de armazenamento) a análise deu-se por regressão (Tabela A42, A43, A44 e A45).

De acordo com a Tabela 4.34 verifica-se, entre a condição de armazenamento, inferioridade do comprimento de plântulas e matéria seca nos tempos  $T_4$  e  $T_6$  para as sementes armazenadas em ambiente natural frente às crioconservadas. Por outro lado, para  $T_0$  e  $T_2$  tanto no comprimento de plântulas como na matéria seca não houve diferenças significativas para a condição de armazenamento.

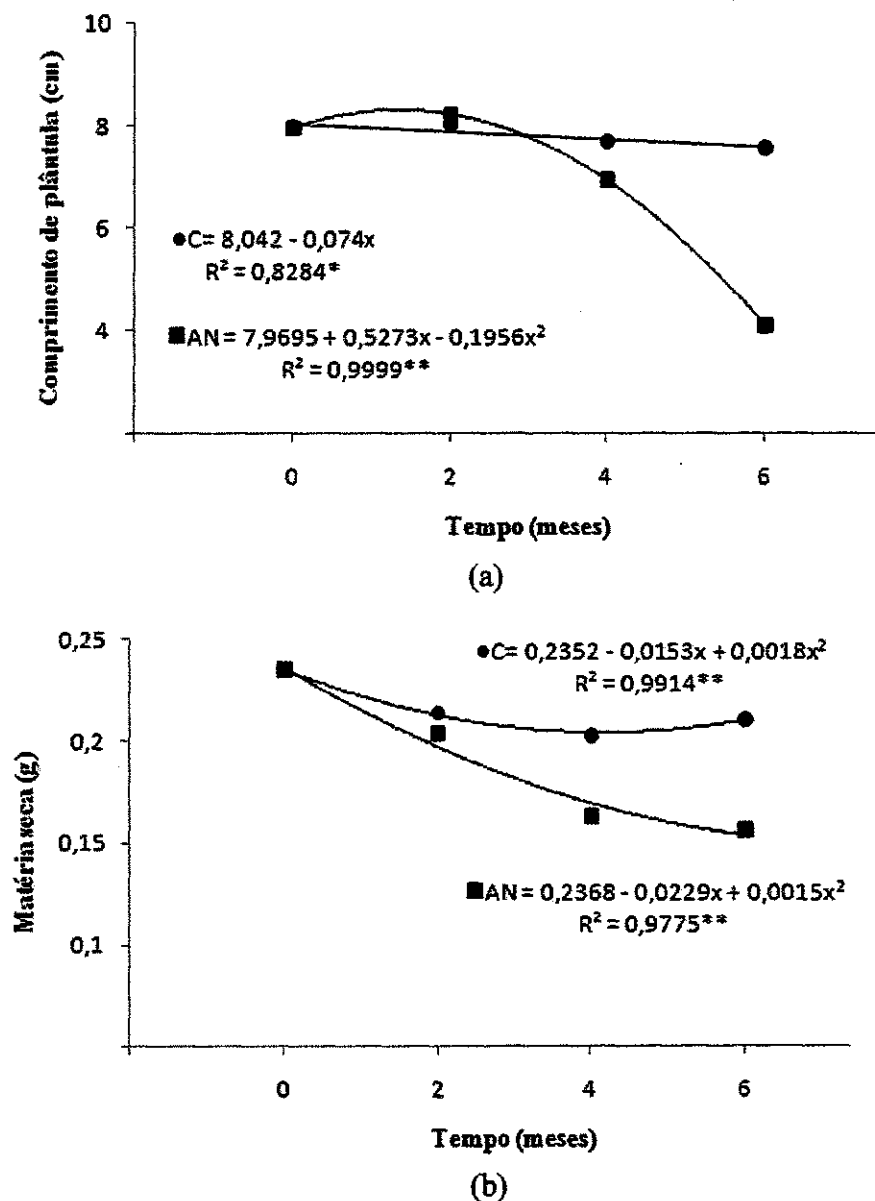
**Tabela 4.34** Valores médios do comprimento das plântulas (cm) e da matéria seca das sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural por 12 meses

| Tempo (meses)  | Condição de armazenamento            |                       |
|----------------|--------------------------------------|-----------------------|
|                | Crioconservadas (C)                  | Ambiente natural (AN) |
|                | <b>Comprimento de plântulas (cm)</b> |                       |
| T <sub>0</sub> | 7,97 A                               | 7,97 A                |
| T <sub>2</sub> | 8,02 A                               | 8,24 A                |
| T <sub>4</sub> | 7,71 A                               | 6,95 B                |
| T <sub>6</sub> | 7,58 A                               | 4,09 B                |
| DMS (L)        | 0,36                                 |                       |
|                | <b>Matéria seca (g)</b>              |                       |
| T <sub>0</sub> | 0,2348 A                             | 0,2348 A              |
| T <sub>2</sub> | 0,2135 A                             | 0,2035 A              |
| T <sub>4</sub> | 0,2020 A                             | 0,1630 B              |
| T <sub>6</sub> | 0,2103 A                             | 0,1560 B              |
| DMS (L)        | 0,01                                 |                       |

As médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Comparando-se o vigor das sementes após análise de regressão, tendo-se considerado o teste de significância e o maior coeficiente de correlação ( $R^2$ ) escolheu-se o efeito linear para o comprimento de plântulas das sementes crioconservadas e o quadrático para as mantidas em ambiente natural e, para a matéria seca, em ambas condições o efeito quadrático.

Mediante os dados desta tabela e de suas representações gráficas (Figura 4.7), nota-se claramente que as sementes, quando armazenadas no nitrogênio líquido, mantiveram seu vigor (comprimento de plântula e matéria seca) durante os tempos de armazenamento estudados enquanto nas sementes armazenadas no ambiente natural houve perda do vigor. Este comportamento pode ser explicado pelo fato de que as sementes armazenadas podem conservar, no máximo suas qualidades iniciais, sendo inevitáveis as perdas de origem fisiológicas; no caso específico, deu-se com o vigor aos 4 meses do início do armazenamento para as sementes mantidas no ambiente natural sem controle de temperatura e umidade relativa do ar, comportamento que, em parte, se explica por ser a viabilidade das sementes dependente das características genéticas, da espécie e dos efeitos do meio ambiente durante a formação, desenvolvimento, maturação, colheita, processamento e armazenamento.



**Figura 4.7** Representação gráfica do comprimento de plântula (a) e da matéria seca (b) das plântulas das sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas (C) e armazenadas em ambiente natural (AN) por 6 meses

Com relação às sementes crioconservadas, CAVALCANTI MATA et al. (2002), trabalhando com sementes de milho das variedades BR-451, BR-201 e BR-2121 e utilizando duas técnicas por imersão no nitrogênio líquido a temperatura de  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  e no vapor do nitrogênio a  $-170\text{ }^{\circ}\text{C}$ , verificaram que a qualidade fisiológica diminui



significativamente até os 30 dias e a partir deste período permaneceu constante até o final (150 dias) do armazenamento.

Esta perda da viabilidade das sementes em condições naturais pode ser explicada pelo possível fato de que cada espécie vegetal tem suas próprias características genéticas; logo, algumas espécies podem ser armazenadas sem perda da sua viabilidade em certo espaço de tempo enquanto outras perdem sua viabilidade acentuadamente com o tempo de armazenamento. Ademais, as condições ambientais, como umidade relativa do ar e temperatura, podem ter influenciado diretamente a redução da viabilidade uma vez que essas sementes foram acondicionadas em embalagens permeáveis permitindo, assim, interferência do meio sobre a qualidade das sementes.

#### 4.3.3 Incidência de fungos

Os resultados da análise de variância da incidência de fungos referente à condição de armazenamento e tempo para as sementes de amendoim criopreservadas e armazenadas em ambiente natural durante 12 meses, estão nas Tabelas A47 e A48 do apêndice, nas quais se observa efeito significativo para todos os fatores e suas interações duplas.

O comportamento da incidência de fungos para a interação Condição de armazenamento x Tempo se encontram na Tabela 4.35 observando-se, para a criopreservação e para o ambiente natural, incidência de *A. flavus* e *Rhizopus*, à exceção do T<sub>2</sub> para *Rhizopus* no ambiente natural (AN), onde não se registrou incidência nem superioridade estatística desta condição quando comparado com a criopreservação. Comportamento semelhante ocorreu para *A. flavus*, à exceção do tempo T<sub>10</sub> e T<sub>4</sub> que, em NA, a incidência foi menor que a registrada na condição criopreservada.

Com relação ao tempo para cada condição de armazenamento, verifica-se tendência de maior incidência desses fungos a medida em que passa o tempo de armazenamento, e para o *A. flavus* na condição C a maior incidência é registrada em T<sub>12</sub> (92,50%) seguida de T<sub>10</sub> e T<sub>4</sub> que, estatisticamente, não diferiram e apresentaram média de 56,25% e as menores nos demais tempos em que, estatisticamente a incidência foi a mesma. Para a condição AN a maior incidência também foi em T<sub>12</sub> (95,00%), seguida

de T<sub>8</sub> e em T<sub>10</sub> e os menores em T<sub>2</sub> e T<sub>0</sub>, em que os valores médios registraram foram 26,25% de incidência.

**Tabela 4.35** Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação condição de armazenamento x Tempo em sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas e armazenadas em condição natural, por 12 meses

| Tempo (meses)   | Condição de armazenamento |           |                 |           |
|-----------------|---------------------------|-----------|-----------------|-----------|
|                 | C                         |           | AN              |           |
|                 | C                         | AN        | C               | AN        |
|                 | <i>A. flavus</i>          |           | <i>Rizophus</i> |           |
| T <sub>0</sub>  | 30,00 cA                  | 30,00 deA | 5,00 bcA        | 5,00 deA  |
| T <sub>2</sub>  | 22,5 cA                   | 22,50 eA  | 25,00 aA        | 0,00 eB   |
| T <sub>4</sub>  | 50,00 bA                  | 42,50 cdA | 15,00 abB       | 25,00 bcA |
| T <sub>6</sub>  | 25,00 cB                  | 40,00 cdA | 12,50 abcB      | 35,00 bA  |
| T <sub>8</sub>  | 22,5 cB                   | 65,00 bA  | 5,00 bcB        | 17,50 cdA |
| T <sub>10</sub> | 62,50 bA                  | 52,50 bcB | 0,00 cB         | 22,50 bcA |
| T <sub>12</sub> | 92,50 aA                  | 95,00 aA  | 5,00 bcB        | 65,00 aA  |
| DMS (C)         | 14,43                     |           | 13,19           |           |
| DMS (L)         | 9,41                      |           | 8,60            |           |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; C: crioconservada; NA: Ambiente natural

O aumento da incidência de *A. flavus* ao longo do tempo da armazenagem para a condição crioconservada se deve, provavelmente, à sua existência nas diferentes formas (vegetativa e latente) nas sementes antes de sua crioconservação, afirmativa que se apoia nas observações de CAMPOS et al. (2004), realizando testes *in vitro* para avaliar o efeito da criopreservação (-196 °C) no crescimento radial e produção de conídios de dois isolados de fungos predadores de nematódides, ao verificarem que baixas temperaturas não influenciaram significativamente o crescimento radial dos fungos, de modo que este crescimento foi mais expressivo com o uso do glicerol, porém a produção de esporos ocorreu em maior proporção quando preservados em geladeira a 4 °C.

A presença de fungos nas sementes crioconservadas mostra que, possivelmente, esses resistem a uma grande amplitude térmica, tolerando baixas temperaturas ou mesmo formam estrutura de resistência, como os esporos que suportam condições ambientais adversas, como escassez de nutrientes, de água e temperaturas não favoráveis ao desenvolvimento fúngico; logo, ao encontrarem condições ideais voltam a se desenvolver.

GOLDFARB (2008) em seu estudo com sementes de pinhão manso verificou que os fungos do gênero *Aspergillus* ocorreram de forma predominante sobre os demais gêneros nos períodos de 30, 60 e 90 dias em sementes crioconservadas, não sendo identificado este gênero nas sementes que não foram crioconservadas. Da mesma forma FARIAS (2003), verificou a presença de fungos do gênero *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. e *Rhizopus* sp. em sementes de jatobá crioconservadas durante sete dias.

#### 4.3.5 Determinação de aflatoxinas

Os resultados da análise de variância da quantidade de aflatoxina em sementes de amendoim crioconservadas e armazenadas em ambiente natural durante 12 meses, encontram nas Tabela A49 e A50, observando-se efeito significativo para todos os fatores e suas interações duplas.

A avaliação da determinação de aflatoxina foi feita durante 12 meses, em que as sementes permaneceram armazenadas mas para a análise estatística utilizaram-se somente dos tempos  $T_0$  e  $T_{12}$  em que se detectou a ocorrência de aflatoxinas, em virtude de que o emprego dos demais meses de média e variância igual a zero influenciou diretamente na homogeneidade das variâncias dos tratamentos, pelo que o COCHRAN (1947) recomenda sua omissão na análise.

A Tabela 4.36 contém os resultados da quantidade de aflatoxina  $B_1$  e  $B_2$  ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) para a interação Condição de armazenamento x Tempo das sementes de amendoim crioconservadas e armazenadas em ambiente natural por 12 meses. Em análise aos seus dados observa-se, para a aflatoxina  $B_1$ , superioridade estatística em  $T_{12}$  em ambas as condições de armazenamento ( $-196\text{ }^\circ\text{C}$  e AN). Nas sementes crioconservadas o nível de quantidade da aflatoxina  $B_1$  foi de  $14,62\ \mu\text{g kg}^{-1}$  em  $T_0$  e  $57,25\ \mu\text{g kg}^{-1}$  em  $T_{12}$ , e nas mantidas no AN apresentaram, em  $T_0$ ,  $14,62\ \mu\text{g kg}^{-1}$  e em  $T_{12}$   $34,10\ \mu\text{g kg}^{-1}$ . Entre as condições de armazenamento a aflatoxina  $B_1$  foi igual na condição C e NA em  $T_0$ , enquanto se verificou em  $T_{12}$  a menor ocorrência da aflatoxina  $B_1$  nas sementes armazenadas em ambiente natural e maior nas sementes crioconservadas; comportamento similar se tem para aflatoxina  $B_2$ , porém com ocorrência foi somente em  $T_{12}$ , em que o nível para a condição AN de  $10,07\ \mu\text{g kg}^{-1}$  e na condição crioconservada  $50,22\ \mu\text{g kg}^{-1}$ .

A superioridade dos níveis de aflatoxina para a condição de crioconservação (C) se deve, provavelmente, às condições estressantes do processo de armazenamento a ultra-baixa temperatura (-196 °C) até as sementes entrarem em equilíbrio com este ambiente, afirmativa que se respalda nas considerações de PINHEIRO (2004), quando afirma que o fungo, quando cresce em condições estressantes, prioriza a produção de toxinas.

Os resultados do presente estudo revelaram em T<sub>12</sub>, para as sementes crioconservadas, níveis de aflatoxinas superiores aos exigidos para comercialização deste produto pelo Ministério da Agricultura, o qual é fixado como limite máximo permitido para comercialização 20 µg kg<sup>-1</sup>. Salienta-se que referidos níveis máximos permitido se referem ao somatório dos tipos de aflatoxina (B<sub>1</sub> + B<sub>2</sub> + G<sub>1</sub> + G<sub>2</sub>) que no presente trabalho (B<sub>1</sub> + B<sub>2</sub>) foi de 107,47 µg kg<sup>-1</sup> para a condição (C) e de 44,17 µg kg<sup>-1</sup> para a condição (AN).

**Tabela 4.36** Quantidade de aflatoxina B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> (µg kg<sup>-1</sup>) para a interação Condição de armazenamento x Tempo em sementes de amendoim da cv. BRS Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| Tempo (meses)                   | Condição de armazenamento |                       |
|---------------------------------|---------------------------|-----------------------|
|                                 | Crioconservadas (C)       | Ambiente natural (AN) |
| <b>Aflatoxina B<sub>1</sub></b> |                           |                       |
| T <sub>0</sub>                  | 14,62 bA                  | 14,62 bA              |
| T <sub>12</sub>                 | 57,25 aA                  | 34,10 aB              |
| <b>Aflatoxina B<sub>2</sub></b> |                           |                       |
| T <sub>0</sub>                  | 0,00 bA                   | 0,00 bA               |
| T <sub>12</sub>                 | 50,22 aA                  | 10,07 aB              |

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

As aflatoxinas são as únicas toxinas regulamentadas pelo Ministério da Saúde no Brasil, em função dos danos que podem causar à saúde humana e animal, logo a ocorrência dessas micotoxinas em amendoim devem ser determinadas e se for superior ao limite tolerado, o produto é considerado impróprio para o consumo e/ou comercialização (BRASIL, 2002).

Ressalta-se que a contaminação por aflatoxinas no amendoim ocorre de maneira muito heterogênea, dificultando estimar exatamente a concentração de aflatoxinas em um grande lote devido à grande variabilidade associada à análise da contaminação por aflatoxinas (CAST, 2003).

## 5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e para as condições em que o trabalho foi desenvolvido, estabeleceram-se as seguintes conclusões:

### a) Cultivar BRS Havana

- ✓ O teor de umidade nas sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira inoculadas (I) e não inoculadas (NI) com *Aspergillus flavus*, variou em todas as doses com o tempo de armazenamento.
- ✓ As sementes de amendoim inoculadas (I) foram armazenadas com teor de umidade inferior aos das não inoculadas (NI) em 6,21%.
- ✓ A umidade das sementes de amendoim armazenadas dentro do fruto (DF) foi inferior às das armazenadas fora do fruto (FF) em média 1,89%.
- ✓ Os fungos detectados nas amostras de amendoim vindo do campo e durante o armazenamento das sementes não inoculadas e inoculadas e armazenadas dentro e fora do fruto foram: *A. flavus*, *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium*, com predominância do *A. flavus* e aumento da incidência pelo aumento do tempo de armazenagem.
- ✓ Houve menor ocorrência do *A. niger* e *Rhizopus* no procedimento inoculado, com predominância do *A. flavus*.
- ✓ A incidência de fungos no amendoim armazenado em casca foi menor em que a do amendoim armazenado fora da casca.
- ✓ A aplicação do extrato de hidroalcoólico de sucupira às sementes de amendoim dentro e fora do fruto, contribuiu para reduzir a incidência de fungos, principalmente do *A. flavus*.
- ✓ Não ocorreu contaminação com aflatoxina nas sementes de amendoim não inoculadas e inoculadas com *A. flavus* e armazenadas dentro e fora do fruto.

**b) Cultivar BR-1**

- ✓ Houve variações no teor de umidade nas sementes de amendoim tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira e inoculadas (I) e não inoculadas (NI) com *A. flavus* em todas as doses conforme o tempo de armazenamento e também nas sementes armazenadas dentro e fora do fruto.
- ✓ Os fungos detectados nas amostras de amendoim vindo do campo e durante o armazenamento das sementes não inoculadas e inoculadas e armazenadas dentro e fora do fruto foram: *A. flavus*, *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium*, com predominância do *A. flavus*.
- ✓ A dose D<sub>100</sub> do extrato de sucupira mostrou-se mais eficiente ao controle dos fungos.
- ✓ Houve menor ocorrência do *A. niger*, *Rhizopus* no procedimento inoculado, com predominância do *A. flavus*.
- ✓ O tratamento das sementes no procedimento NI não afetou a qualidade fisiológica das sementes; contudo, a infestação de fungos no procedimento I afetou negativamente a germinação das sementes.
- ✓ A incidência de fungos no amendoim armazenado em casca foi menor que a do amendoim armazenado fora da casca.
- ✓ As sementes armazenadas dentro do fruto mantiveram sua germinação ao longo do armazenamento (98,30%), enquanto as armazenadas fora do fruto perderam acentuadamente sua germinação que, ao final do tempo de armazenamento, foi de 49,54%.

**c) Crioconservação - Havana**

- ✓ As sementes armazenadas em nitrogênio líquido (-196 °C) mantiveram sua germinação e vigor ao longo do armazenamento, enquanto as armazenadas em

condições ambientais perderam acentuadamente sua viabilidade após 9 meses de armazenamento.

- ✓ Os fungos detectados nas amostras de amendoim vindo do campo e durante o armazenamento das sementes crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, foram: *A. flavus* e *Rhizopus*, com predominância do *A. flavus*.
- ✓ Houve aumento da incidência de *A. flavus* ao longo do armazenamento nas duas condições de armazenamento (crioconservadas e ambiente natural).
- ✓ Detectou-se a presença de aflatoxina B<sub>1</sub> no tempo inicial (T<sub>0</sub>) e aflatoxina B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> aos 12 meses de armazenamento tanto nas sementes armazenadas em ambiente natural como nas crioconservadas.
- ✓ Ocorreu maior quantidade de aflatoxinas nas sementes crioconservadas ao final do armazenamento que nas sementes armazenadas em condição natural.
- ✓ Os níveis de aflatoxina (B<sub>1</sub> + B<sub>2</sub>), ao final do armazenamento apresentaram-se acima do limite máximo permitido pela Legislação Brasileira (20 µg kg<sup>-1</sup>), com sementes crioconservadas (107,47 µg kg<sup>-1</sup>) e ambiente natural (44,17 µg kg<sup>-1</sup>).

## **6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALMEIDA, F. de A.C. Crioconservação de sementes na manutenção de bancos de germoplasma. Simpósio Brasileiro do Urucum. **Palestra... SIMBRAU**. 2006.

ALMEIDA, F. de A.C.; ALMEIDA, S.A.; SANTOS, N.R.; GOUVEIA, J.P.G. de; ARAÚJO, M.E.R. Efeitos de extratos alcoólicos de plantas sobre o caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.4, p.604-609, 2005.

ALMEIDA, F. de A.C.; MORAIS, A.M.; CARVALHO, J.M.F.C.; GOUVEIA, J.P.G. de. Crioconservação de sementes de mamona das variedades nordestina e pernambucana. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.6, n.2, p.295-302, 2002.

ALMEIDA, F. de A.C.; VILLAMIL, J.M.P.; GOUVEIA, J.P.G. de. Efecto de la crioconservación sobre la germinación de semillas de leguminosas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.2, n.1, p.67-71, 2000.

ALMEIDA, F. de A.C.; FONSECA, K.S.; GOUVEIA, J.P.G. de. Influência da embalagem e do local de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de gergelim. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.3, n.2, p.195-201, 1999.

ALMEIDA, F. de A.C.; MATOS, V.P.; CASTRO, J.R. de; DUTRA, A.S. **Avaliação da qualidade e conservação de sementes a nível de produtor**. In: ALMEIDA, F. de A. C.; HARA, T.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. Armazenamento de grãos e sementes nas propriedades rurais. Campina Grande: UFPB/SBEA, p.134-177, 1997.

ALMEIDA, S.A. **Extratos vegetais no controle ao *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) e seus efeitos na conservação do feijão *Vigna unguiculata* (L. Walp.)** 2003. 80f. Dissertação (Mestrado) – UFCG. Campina Grande, PB.



ALVES, D.G. **Avaliação do nível de aflatoxina em amendoim (*Arachis hypogaea*) armazenado após secagem natural e artificial.** 1995. 65f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Agrícola. Campinas, SP.

ALVES, N.M.C. **Comportamento da micoflora e da aflatoxina em sementes de amendoim tratadas com extratos vegetais e irradiação gama.** 2008. 129f. Dissertação (Mestrado) – UFCG. Campina Grande, PB.

ANVISA BRASIL: Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 274 de 15/10/2002. Dispõe sobre os limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite, amendoim e milho. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 de out. 2002.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Natural Toxins. In: **Official Methods of Analysis**, Arlington, Virginia, p.3-5, 2005.

ATHIÉ, I.; CASTRO, M.F.P.M. de; GOMES, R.A.R.; VALENTINI, S.R.T. **Conservação de grãos.** Campinas, Fundação Cargill, 1998. 236p.

AZEREDO, G.A. de; BRUNO, R. de L.A.; LOPES, K.P.; SILVA, A. da; DINIZ, E.; LIMA, A.A. de. **Conservação de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) em função do beneficiamento, embalagem e ambiente de armazenamento.** **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.35, n.1, p.37-44, 2005.

BARRETO, A.F.; ARAÚJO, E.; BELTRÃO, N. E. de M.; DIONÍZIO, G. **Análise sanitária de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch) da cultivar BRS 201 tratadas com extrato de agave.** In: Congresso Brasileiro de Algodão, 4, 2003, Goiânia, GO, **Anais...** 2003. CD-ROM.

BARRETO, R.W. **Fungos fitopatogênicos.** Viçosa: Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, UFC, 2001. 48p.

BATATINHA M.J.M.; SANTOS, M.M.; BOTURA, M.B.; DOMINGUES, L.F.; KOWALSKI, C.H.; MALLMANN, C.A. Ocorrência de aflatoxinas em Amendoim e Seus Produtos Comercializados no Estado da Bahia Durante o Ano de 2002. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62, n.3, 183-187, 2003.

BELLETTINI, N.M.T.; ENDO, R.M.; MIGLIORANZA, E.; SANTIAGO, D.C. Patogeneidade de fungos associados às sementes e plântulas de amendoim cv. Tatu. **Semina: Ciências Agrárias**, v.26, n.2, p.167-172, 2005.

BOLONHEZI, D.; GODOY, I.J. de; SANTOS, R.C. dos. **Manejo cultural do amendoim**. In: SANTOS, R.C. O agronegócio do amendoim no Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão, p.193-244, 2005.

BRAGA, S.M.L.F.M. **Desenvolvimento de metodologia analítica para ensaios de aflatoxinas em *maytenus ilicifolia mart* comercializados no estado da Paraíba**. 2003. 158f. Tese (Doutorado) – UFPB, João Pessoa, PB.

BRANKS, D. J. Peanuts: Germoplasm resources. **Crop Science**, v.16, p.499-502.1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365p.

BRUNO, R. de L.A; AZERÊDO, G.A. de; QUEIROGA, V. de P.; ARAÚJO, E.; DINIZ, E. Qualidade fisiológica e micoflora de sementes de amendoim CV. BR-1 durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v.4. n.3, p.141-152, 2000.

CALDAS, E.D.; SILVA, S.C.; OLIVEIRA, J.N. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. **Revista Saúde Pública**, v.36, n.3, p.319-323, 2002.

CAMARGO, F.R. **Tratamentos alternativos na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de espécies florestais**. 2007. 75f. Dissertação (Mestrado) – UFSM. Santa Maria, RS.

CAMPOS, A.K.; MOTA, M.A.; ARAÚJO, J.V.; CECON, P. R. Atividade predatória, crescimento radial e esporulação de fungos predadores de nematóides *Monacrosporium* spp, submetidos a criopreservação. **Ciência Rural**, v.34, n.2, p.465-469, 2004.

CARVALHO, A.P.P. **Aflatoxinas: Ocorrência, distribuição e estimativa de ingestão através de produtos de amendoim na cidade de Piracicaba – São Paulo**. 2005. 101f. Dissertação (Mestrado) – USP. Piracicaba, SP.

CARVALHO, M.L.M. de; VILELLA, F. do A. Armazenamento de sementes. **Informe Agropecuário**, v.27, n.232, p.70-75, 2006.

CARVALHO, N. M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CARVALHO, R.A.; LACERDA, J.T. de; OLIVEIRA, E.F. de; SANTOS, E.S. dos. Extratos de plantas medicinais como estratégia para o controle de doenças fúngicas do inhame (*Discorea* sp.) no Nordeste. In: Simpósio Nacional sobre as Culturas do Inhame e do Taro, 2., 2002. João Pessoa, PB. **Anais...** João Pessoa, PB: EMEPA-PB, 2002. v. 1, 312 p.

CAST - Council for Agricultural Science and Technology. **Mycotoxins: Risks in plant, Animal and Human**. Report N°. 116. Ames, Iowa. 2003. 217 p.

CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W. **Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água**. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. Germinação do básico ao aplicado. São Paulo: ARTMED, p.53-65, 2004,

CAVALCANTI MATA, M.E.R.M.; ROCHA, M. do S.; DUARTE, M.E.M. Crioarmazenagem de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.27, n.2, p.23-30, 2002.

CHATTERJEE, D. Inhibition of fungal growth and infection in maize grains by spice oils. **Seed Pathology and Microbiology**, v.2, p.27, 1991.

COCHRAN, W.G. Some consequences when the assumptions for the analysis of variance are not satisfied. **Biometrics**, v.3, p.22-38, 1947.

COELHO, E.E.; FARONI L.R.D.; BERBERT, P.A.; MARTINS, J.H. Armazenamento e processamento de produtos agrícolas – Eficácia da mistura dióxido de carbono-fosfina no controle de *Sitophilus zeamais* em função do período de exposição. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.2, p.227-234, 2000.

COELHO, R.R.P. Protocolo de crioconservação de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L. raça *Latifolium* Hutch.) cultivares BRS 200 marrom e BRS verde. 2006. 89f. Tese (Doutorado) – UFPB. João Pessoa, PB.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/4levsafra.pdf>> Acesso em: 05 de junho de 2008.

COSTA, R.S. Avaliação da aflatoxina em sementes de amendoim armazenadas e do óleo de nim no crescimento micelial de *Aspergillus flavus*. 2007. 67f. Dissertação (Mestrado) – UFCG. Campina Grande, PB.

DHINGRA, O.D. Prejuízos causados por microrganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.7, n1, p.139-145, 1985.

DINIZ, E.; SILVA., C.L.; MUNIZ, M.B.; QUEIROGA, V. de P.; BRUNO, R.L. de A. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) Armazenadas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.3, n.1, p.61-72, 2001.

DINIZ, P.S.C; MATA, M.E.R.M.C.; BRAGA, M.E.D. Influência das técnicas de descongelamento na qualidade fisiológica de sementes de milho crioconservadas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.1, n.1, p.1-12, 1999.

FARIAS, A.X. de; ROBBS, C.F.; BITTENCOURT, A.M.; ANDRESEN, P.M.; CÔRREA, T.B.S. Contaminação endógena por *Aspergillus* ssp. em milho pós-colheita no estado do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.3, p.617-621, 2000.

FARIAS, D.C. **Desenvolvimento de um protocolo para crioconservação de sementes de jatobá: fitossanidade e cinética de congelamento**. 2003. 93f. Dissertação (Mestrado) – UFCG. Campina Grande, PB.

FARONI, L.R.D.; SILVA, J. de S; SILVA, F.A.P. da. **Pragas e métodos de controle**. In: Pré-processamento de produtos agrícolas. Juiz de Fora, MG: Instituto Maria, p.356-385, 1995.

FERREIRA, H.; PITTNER, E.; SANCHES, H.F.; MONTEIRO, M.C. Aflatoxinas: Um risco a saúde humana e animal. **Ambiência**, v.2, n.1, p.113-127, 2006.

FLORES, W.L.; SAMPAIO, L.S.V.; MARQUES O.M.; COSTA, J.A. Efeitos dos extratos de pimenta do reino e cinamomo e do malation no controle do caruncho *Zabrottes subfasciatus* em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) armazenadas. **Insecta**, v.2, n.1, p.11-22, 1993.

FONSECA, H. **Os fungos e a deterioração de alimentos**. Disponível em <<http://www.micotoxinas.com.br/boletim4.htm>>. Acesso em 05 de outubro de 2009.

FREITAS, S.M.; MARTINS, S.S.; NOMI, A.K; CAMPOS, A.F. **Evolução do mercado brasileiro de amendoim**. In: SANTOS, R.C. O agronegócio do amendoim no Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão, p 15-44, 2005.

GODOY, I.J.; MORAES, S.A.; ZANOTTO, M.D.; SANTOS, R.C. Melhoramento do Amendoim. In: BORÉM, A. ed. **Melhoramento de espécies cultivadas**, Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, p.51-94, 1999.

GOLDFARB, A.C. **Controle do inseto *Sitophilus* spp com extratos naturais de origem vegetal e seus efeitos na qualidade fisiológica em sementes de milho.** 1997. 77p. Dissertação (Mestrado) – UFPB. Campina Grande, PB.

GOLDFARB, M. **Crioconservação e sanidade de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)** 2008. 110p. Dissertação (Mestrado) – UFCG: Campina Grande, PB.

GONÇALVES, E.P.; ARAÚJO, E.; ALVES, E.U.; COSTA, N.P. Tratamento químico e natural sobre a qualidade fisiológica e sanitária em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) armazenadas. **Revista Biociências**, v.9, n.1, p.23-29, 2003.

GONZAGA, T.W.C.; MATA, M.E.R.M.C.; SILVA, H.; DUARTE, M.E.M. Crioconservação de Sementes de Aroeira (*Astronium urundeuva* Engl.), e Baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.5, n.2, p. 145-154, 2003.

GUIMARÃES, R.M.; OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA, A.R. Aspectos fisiológicos de sementes. **Informe Agropecuário**, v.27, n.232, p.40-50, 2006.

GURJÃO, K.C. de O. **Qualidade fisiológica, nutricional e sanitária de sementes armazenadas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), Produzidas no semi-árido nordestino.** 1995. 87p. Dissertação (Mestrado) – UFPB. Campina Grande, PB.

HAMMONS, R.O. Registration of spaneros peanuts. **Crop Science**, 1970, v.10, 459p.

HARA, T.; ALMEIDA, F. de A.C.; CAVALCANTI MATA, M.E.R.M. **Estrutura de armazenamento a nível de produtor.** In: ALMEIDA, F. de A.C.; HARA; T.; CAVALCANTI MATA, M.E.R.M. Armazenamento de grãos e sementes nas propriedades rurais. Campina Grande: UFPB/SBEA, p.134 -177, 1997.

JERÔNIMO, E.S. **Crioarmazenagem de sementes de 5 espécies de oleaginosas de interesse econômico no nordeste brasileiro.** 2005. 74 f. Dissertação (Mestrado) – UFCG. Campina Grande, PB.

JUNQUEIRA, N.T.V.; NASCIMENTO; A.L.C. do; RAMOS, V.H.V.; LAGE; D.A. da C.; KRAHL; L.L.; ALMEIDA, D.A.; CABRAL, G. de A. **Efeito de produtos biológicos e químicos no controle da antracnose e na conservação da manga cv. Palmer em pós-colheita.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003a. 14p. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento.

JUNQUEIRA, N.T.V.; SILVA; A.P. de O.; MISAEL; L.P.; LAGE; D.A. da C.; SILVA; D.M.; FIALHO; J. de F.; JUNQUEIRA, L.P. **Potencial de defensivos agrícolas no controle da antracnose e na conservação de bananas na pós-colheita.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003b. 14p. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento.

KUMAR, S. Performace of leaf extracts preservation of paddy seed. *Seed Research*, v.18, n.1, p.95-97, 1990.

LACERDA, S.N.B.; MATA, M.E.R.M.C.; BRAGA, M.E.D.B.; SILVA, F.A.S. Estudo Comparativo da Crioarmazenagem de Semente de Pau-Ferro (*Caesalpinia férrea* Mart.) com as Técnicas Convencionais de Armazenagem. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, v.4, n.1, p.7-14, 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MANUAL de segurança e qualidade para cultura do amendoim. Brasília: CampoPAS, 2004. 19p. Série Qualidade e Segurança de Alimentos.

MARTIN, P.S. **Amendoim: Uma planta da história no futuro brasileiro.** São Paulo: Ícone, 1985, 68p.

METEN, J.O.M. Tratamento de sementes. In: Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes, 4, Gramado, RS. 1996. **Anais...** Gramado, RS, ABRATES/COPASEM, p.3-23, 1996.

MIDIO, A.F; MARTINS, D.I. **Toxicologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. 295p.

MIETH, A.T.; PIVETA, G.; PACHECO, C.; HAMANN, F.; RODRIGUES, J.; MUNIZ, M.F.B.; BLUME, E. Microflora e qualidade fisiológica de sementes de cedro (*Cedrella fissilis*) tratadas com extrato natural de hortelã (*Mentha piperita*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.2, p.1191-1195, 2007.

MOLINA, T.F.; TILLMANN, M.A.A.; DODE, L.B.; VIÉGAS, J. Crioconservação de sementes de cebola. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.72-81, 2006.

MORAES, J.S. **Qualidade fisiológica de sementes de amendoim (*Arachis hypogaeas* L.) acondicionadas em três embalagens e armazenadas em duas microrregiões do estado da Paraíba**. 1996. 99 f. Dissertação (Mestrado) – UFCG. Campina Grande, PB.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. Ed. São Paulo: Varela Editora e Livraria LTDA, 1998. 151p.

NAKAGAWA, J. **Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas**. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N.M. Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, p.48-85, 1994.

NAKAI, V.K. **Distribuição de fungos e aflatoxinas em variedade de amendoim armazenado**. 2006. 133p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas: USP, SP.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. 2 ed. London: Mac Millan Press, 1979, v.2, 1191p.



NOBREGA, F.V.A.; SUASSUNA, N.D. Análise sanitária de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) armazenadas em algumas áreas do estado da Paraíba. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.4, n.2, p.1-9, 2004.

NOGUEIRA, R.J.M.C; TÁVORA, F.J.A.F. Ecofisiologia do amendoim (*Arachis hypogaea* L.). In: SANTOS, R.C. O agronegócio do amendoim no Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão, p.71-122, 2005.

OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA, M.G.G.C.; VON PINHO, E.V.R.; CARVALHO, M.L.M. Comportamento de sementes de milho tratadas fungicidas antes e após o armazenamento convencional. **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, n.2, p.207-212, 1997.

OLIVEIRA, M.S.S.; ROEL, A.R.; ARRUDA, E.J.; MARQUES, A.S. Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E.SMITH,1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.2, p.326-331, 2007.

PEDROZA, J.P.; CIRNE, L.E. da M.R.; MORAES NETO, J.M. de. Teores de bixina e proteína em sementes de urucum em função do tipo e do período de armazenagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.3, n.1, p.121-123, 1999.

PEREIRA, M.M.G.; CARVALHO, E.P.; PRADO, G. Crescimento e produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. **Boletim CEPPA**, v.20, n.1, p.141-156, 2002.

PINHEIRO, M.R.R. Estudo de variabilidade genética de *aspergillus flavus* como base para o desenvolvimento de PCR multiplex para detecção de fungos produtores de aflatoxinas em castanha-do-brasil e castanha de caju. 2004. 149f. Dissertação Mestrado – UCB. Brasília, DF.

PINTO, N.F.J. de A. Preservação da qualidade sanitária de grãos úmidos de milho através do controle químico da atividade fúngica. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.29, n.2, p.159-164, 2004.

PIO-RIBEIRO, G.; ANDRADE, G.P. de; MORAES, S.A. de. **Principais doenças do amendoim e seu controle**. In: SANTOS, R. C. O agronegócio do amendoim no Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão, p.263-338, 2005.

PITA VILLAMIL, J. Crioconservación de semillas. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 26, 1997, Campina Grande, PB. **Minicurso**, Campina Grande:UFPB/SBEA, 1997. 55p.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M.S.; MOREIRA, A.P.A.; LIMA, A.S.; SOUZA, R.A.; ALVES, M.C. Determinação de aflatoxina B1 em pimenta (*Piper nigrum* L.) e orégano (*Origanum vulgare* L.) por cromatografia em camada delgada e desintometria. **Química Nova**, v.31, n.3, p.514-517, 2008.

PUZZI, D. **Abastecimento e armazenamento de grãos**. Campinas, SP: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 2000. 666p.

QUEIROZ, M.S.R. de; **Estudo de aflatoxina em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) durante armazenagem**. 1998. 95p. Dissertação (Mestrado) – UFPB: João Pessoa, PB.

QUEIROZ, M.S.R. de; NARAIN, N.; FREIRE, R.M.M.; FARIAS, S.R. de; SANTOS, R.C. dos. Determinação de aflatoxinas em sementes de amendoim armazenadas em condições ambiente e em câmara fria. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v.10, n.1/2, p.1009-1015, 2006.

RANDUNZ, L.L.; DIONELLO, R.G.; ELIAS, M.C.; BARBOSA, F. da F. Influência do método de armazenamento na qualidade física e biológica de grãos de milho. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.31, n.2, p.136-143, 2006.

REIS, E.M.; CASA, R.T. Ciclos biológicos e epidemiologia: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Diplodia* e *Fusarium*. In: MOLIN, R.; VALENTINI, M. L. **Simpósio sobre micotoxinas em grãos**. Fundação Cargill, Fundação ABC, 1999.

RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, v.56, n.4, p.1267-1271, 1999.

ROBERTS, E.H. Problems of long: term storage of seed and pollen for genetic resources conservation. In: FRANKEL, O. H.; HAWKES, J. G. **Crop genetic resources for today and tomorrow**. Cambridge, p.269-295, 1973.

ROSSETTO, C.A.V.; VIEGAS, E.C.; LIMA, T.M. Contaminação fúngica do amendoim em função das doses de calcário e das épocas de amostragem. **Bragantia**, v.62, n.3, p.437-45, 2003.

SABINO, M.; MILANZ, V.T.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA, E.I.; ZORZETTO, M.A.P.; NAVAS, S.A.; STOFER, M. Occurrence of aflatoxins in peanuts and peanut products consumed in the state of São Paulo/Brazil from 1995 to 1997. **Revista de Microbiologia**, v.30, p.85-88, 1999.

SABINO, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Mycotoxin research in Brazil. **Revista Ciência e Cultura**, v.45, n.6, p.359-371, 1993.

SANTOS FILHO, D.; VICHNEWSKI, W.; BAKER, P.M.; GILBERT, B. Prophylaxis of Schistosomiasis: Diterpenes from *Pterodon pubescens*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.44, n.1, p.45-49, 1972.

SANTOS, C.C.M.; LOPES, M.R.V.; KOSSEKI, S.Y. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim comercializados na região de São José do Rio Preto/SP. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.60, n.2, 153-157, 2001.

SANTOS, N.R. **Efeitos de extratos vegetais com relação à mortalidade do caruncho (*Sitophilus zeamais* L.) e a qualidade fisiológica de sementes de milho armazenadas.** 2003. 57f. Dissertação (Mestrado) – UFCG: Campina Grande, PB.

SANTOS, R.C. dos; FREIRE, R.M.M; SUASSUNA, T. de M.F.; REGO, G.M. BRS Havana: nova alternativa de amendoim de pele clara. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41. n.8, p.1337-1339, 2006.

SANTOS, R.C. dos; GODOY, J.I. de; FÁVERO, A.P. **Melhoramento do amendoim.** In: SANTOS, R. C. O agronegócio do amendoim no Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão, p123-192, 2005.

SANTOS, R.C. dos; VALE, L.V.; SILVA, R.R.F.; ALMEIDA, R.P. de; ALMEIDA, V.M.R.A. **Recomendações técnicas para o cultivo de amendoim precoce no período das águas.** Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1996. 21p. Circular Técnica, 20.

SANTOS, R.C.; SUASSUNA, T.M.F. Cultivares. **Sistemas de produção.** n. 7. Campina Grande, Dez. 2006. Versão Eletrônica. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amendoim/CultivadoAmendoim/cultivares.html>>. Acesso em: ago 2008.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, n.12, p.3875-3883, 1991.

SCALCO A.R.; MACHADO, J.G.C.F.; QUEIROZ ,T.R. Diagnóstico da gestão da qualidade na cadeia produtiva do amendoim: estudo de casos. In: XLVI Congresso da Sociedade brasileira de economia, Sociologia e Administração Rural. Rio Branco – Acre, **Anais...** Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural , 2008.

SHUNDO, L.; SILVA, R.A.; SABINO, M. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de Marília – SP, Brasil no período de 1999-2001. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62, n.3, p.177-181, 2003.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V.A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: EORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4, Orlando-FL-USA: **Anais...** Orlando: American Socity of Agricultural Engineers, p.393-396, 2006.

SILVA, I.D. da; TAKATSUKA, F.S; ROCHA, M.R da; CUNHA, M.G. da. Efeito do extrato de Sucupira (*Pterodon emarginatus* Vog.) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.35, n.2, p.109-115, 2005.

SILVA, J. de S e; DONZELES, S.M.L; AFONSO, A.D.L. **Qualidade os grãos**. In: Pré-processamento de produtos agrícolas. Juiz de Fora, MG: Instituto Maria, p.53-100, 1995b.

SILVA, J. de S. e; BRACCINI, A. de L. e; PARIZZI, F.C. **Beneficiamento e controle de qualidade**. In: Pré-processamento de produtos agrícolas. Juiz de Fora, MG: Instituto Maria, p.315-339, 1995a.

SILVA, J.F.A.F.; RODRIGUES, J.E.L.F.; TEIXEIRA, R.N.G. Amendoim BR1 intercalar no Marajó. **Comunicado Técnico**, Embrapa, Belém, PA, p.1-3, 2004.

SILVA, J.L.; MESQUITA, A.J.; OLIVEIRA, J.P.; COSTA, J.L.S.; RIBEIRO, K.O.; NICOLAU, E.S.; OLIVEIRA, A.N. Ocorrência de Aflatoxinas em Feijões Comercializados no Mercado Varejista de Goiânia-GO. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.32, n.2, p.109-114, 2002.

SILVEIRA, V.I.; MASSON, M.L. Presença de aflatoxinas em amendoim e seus derivados. **Brasil Alimentos**, n.20, 2003.

SOARES, L.M.V. Micotoxinas: **Um método para análise simultânea e incidência em alimentos comercializados na região de Campinas**. 1987. 129f. Tese (Doutorado) – UNICAMP: São Paulo, SP.

SOUZA, A.A. de. **Influência do horário de colheita e do tratamento sobre a qualidade das sementes do algodoeiro herbáceo (*Gossypium hirsutum* L. *latifolium* Hutch).** 2000. 88f. Dissertação (Mestrado) – UFPB. Areia, PB.

SUASSUNA, N.D.; COUTINHO, W.M.; SANTOS, R.C.; SUASSUNA, T.M.F. **Doenças. Sistemas de Produção.** n. 7. Campina Grande, Dez. 2006. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amendoim/CultivodoAmendoim/doencas.html>>. Acesso em: ago 2008.

TANAKA, M.A.S.; MAEDA, J.A.; ALMEIDA, I.H.; PLAZAS, Z. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamento. **Scientia Agrícola**, v.58, n.3, p.501-508, 2001.

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**, v.24, n.2, p.699-706, 1999.

VIEGAS, E. de C; SOARES, A.; CARMO, M.G.F. do; ROSSETO, C.A.V. Toxidade de óleos essenciais de alho e casca da canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.4, p.915-919, 2005.

VIEIRA, D.R.; CARVALHO, N.M. de. **Teste de vigor em sementes.** Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164 p.

VILLELA, F.A.; PERES, W.B. **Coleta e beneficiamento e armazenamento.** In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado.** São Paulo: Artmed, p.265–271, 2004.

WILLIAMS, L.A.D.; MANSINGH, A. Pesticidal potentials of tropicals plants I. insecticidal activity in leaf extracts of sixty of sixty plants. **Insect Science and its Application**, v.14, n.5/6, p. 697-7000, 1993.

# **Apêndice**

**Tabela A1.** Análise de variância dos valores médios de umidade das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| FV                | GL  | SQ      | QM     | F          |
|-------------------|-----|---------|--------|------------|
| Procedimentos (P) | 1   | 7.843   | 7.843  | 333.20 **  |
| Doses (D)         | 4   | 1.711   | 0.428  | 18.17 **   |
| Tempo (T)         | 4   | 102.319 | 25.579 | 1086.68 ** |
| P x D             | 4   | 0.823   | 0.2059 | 8.75 **    |
| P x T             | 4   | 17.055  | 4.264  | 181.13 **  |
| D x T             | 16  | 12.292  | 0.768  | 32.64 **   |
| P x D x T         | 16  | 1.379   | 0.086  | 3.66 **    |
| Tratamento        | 49  | 143.422 | 2.927  | 124.34 **  |
| Resíduo           | 100 | 2.354   | 0.023  |            |
| Total             | 149 | 145.776 |        |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A2.** Análise de variância da incidência de *A. flavus* nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| FV                | GL  | SQ        | QM       | F          |
|-------------------|-----|-----------|----------|------------|
| Procedimentos (P) | 1   | 20000.00  | 20000.00 | 1090.91 ** |
| Doses (D)         | 4   | 7490.00   | 1872.50  | 102.14 **  |
| Tempo (T)         | 4   | 172315.00 | 43078.75 | 2349.75 ** |
| P x D             | 4   | 10910.00  | 2727.50  | 148.77 **  |
| P x T             | 4   | 13805.00  | 3451.25  | 188.25 **  |
| D x T             | 16  | 8020.00   | 501.25   | 27.34 **   |
| CA x D x T        | 16  | 11060.00  | 691.25   | 37.70 **   |
| Tratamento        | 49  | 243600.00 | 4971.43  | 271.17 **  |
| Resíduo           | 150 | 2750.00   | 18.33    |            |
| Total             | 199 | 246350.00 |          |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste



**Tabela A3.** Análise de variância da incidência de *A. niger* nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| FV                | GL  | SQ        | QM        | F          |
|-------------------|-----|-----------|-----------|------------|
| Procedimentos (P) | 1   | 26101.555 | 26101.555 | 2337.45 ** |
| Doses (D)         | 4   | 1821.208  | 455.302   | 40.77 **   |
| Tempo (T)         | 4   | 9236.608  | 2309.152  | 206.79 **  |
| P x D             | 4   | 1251.285  | 312.821   | 28.01 **   |
| P x T             | 4   | 17270.973 | 4317.743  | 386.66 **  |
| D x T             | 16  | 4160.224  | 260.014   | 23.28 **   |
| P x D x T         | 16  | 3542.147  | 221.384   | 19.82 **   |
| Tratamento        | 49  | 63384.00  | 1293.551  | 115.84 **  |
| Resíduo           | 150 | 1675.00   | 11.167    |            |
| Total             | 199 | 65059.00  |           |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A4.** Análise de variância da incidência de *Rhizopus* nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.             | GL  | SQ         | QM        | F          |
|------------------|-----|------------|-----------|------------|
| Procedimento (P) | 1   | 46363.170  | 46363.170 | 1807.47 ** |
| Doses (D)        | 4   | 39195.596  | 9798.899  | 382.01 **  |
| Tempo (T)        | 4   | 18822.831  | 4705.708  | 183.45 **  |
| P x D            | 4   | 3672.038   | 918.009   | 35.79 **   |
| P x T            | 4   | 13052.891  | 3263.222  | 127.22 **  |
| D x T            | 16  | 22118.823  | 1382.4326 | 53.89 **   |
| P x D x T        | 16  | 9023.397   | 563.962   | 21.99 **   |
| Tratamento       | 49  | 152248.746 | 3107.117  | 121.13 **  |
| Resíduo          | 150 | 3847.637   | 25.651    |            |
| Total            | 199 | 156096.383 |           |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A5.** Análise de variância da incidência de *Penicillium* nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.       | GL | SQ       | QM      | F         |
|------------|----|----------|---------|-----------|
| Doses (D)  | 4  | 70.00    | 17.50   | 3.09 *    |
| Tempo (T)  | 4  | 12012.16 | 3003.04 | 529.94 ** |
| D x T      | 16 | 280.00   | 17.50   | 3.09 **   |
| Tratamento | 24 | 12362.16 | 515.09  | 90.90 **  |
| Resíduo    | 75 | 425.00   | 5.67    |           |
| Total      | 99 | 12787.16 |         |           |

ns - não significativo

\* - significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* - significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L - Grau de liberdade; S.Q - Soma dos quadrados; Q.M - Quadrado médio; F - Variável do teste

**Tabela A6.** Análise de variância dos valores médios de umidade das sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| FV                             | GL  | SQ      | QM     | F          |
|--------------------------------|-----|---------|--------|------------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1   | 0.752   | 0.752  | 32.56 **   |
| Doses (D)                      | 4   | 0.304   | 0.076  | 3.29 *     |
| Tempo (T)                      | 4   | 98.989  | 24.747 | 1071.62 ** |
| CA x D                         | 4   | 0.419   | 0.105  | 4.53 **    |
| CA x T                         | 4   | 1.726   | 0.431  | 18.68 **   |
| D x T                          | 16  | 12.737  | 0.796  | 34.47 **   |
| CA x D x T                     | 16  | 1.992   | 0.124  | 5.39 **    |
| Tratamento                     | 49  | 116.919 | 2.386  | 103.32 **  |
| Resíduo                        | 100 | 2.309   | 0.023  |            |
| Total                          | 149 | 119.228 |        |            |

ns - não significativo

\* - significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* - significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L - Grau de liberdade; S.Q - Soma dos quadrados; Q.M - Quadrado médio; F - Variável do teste

**Tabela A7.** Análise de variância da incidência de *A. flavus* nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| FV                             | GL  | SQ         | QM         | F          |
|--------------------------------|-----|------------|------------|------------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1   | 106601.914 | 106601.914 | 4585.60 ** |
| Doses (D)                      | 4   | 16490.639  | 4122.660   | 177.34 **  |
| Tempo (T)                      | 4   | 56693.243  | 14173.311  | 609.681 ** |
| CA x D                         | 4   | 4528.139   | 1132.035   | 48.69 **   |
| CA x T                         | 4   | 29222.243  | 7305.561   | 314.26 **  |
| D x T                          | 16  | 12800.002  | 800.000    | 34.41 **   |
| CA x D x T                     | 16  | 10665.302  | 666.581    | 28.67 **   |
| Tratamento                     | 49  | 237001.481 | 4836.765   | 208.06 **  |
| Resíduo                        | 150 | 3487.065   | 23.247     |            |
| Total                          | 199 | 240488.546 |            |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A8.** Análise de variância da incidência de *A. niger* nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| FV                             | GL  | SQ        | QM        | F         |
|--------------------------------|-----|-----------|-----------|-----------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1   | 17441.516 | 17441.516 | 884.28 ** |
| Doses (D)                      | 4   | 1602.616  | 400.654   | 20.31 **  |
| Tempo (T)                      | 4   | 10024.883 | 2506.221  | 127.06 ** |
| CA x D                         | 4   | 2033.633  | 508.408   | 25.78 **  |
| CA x T                         | 4   | 16460.985 | 4115.246  | 208.64 ** |
| D x T                          | 16  | 4368.575  | 273.036   | 13.84 **  |
| CA x D x T                     | 16  | 4502.682  | 281.418   | 14.27 **  |
| Tratamento                     | 49  | 56434.890 | 1151.732  | 58.39 **  |
| Resíduo                        | 150 | 2958.577  | 19.724    |           |
| Total                          | 199 | 59393.468 |           |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A9.** Análise de variância da incidência de *Rhizopus* nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| FV                             | GL  | SQ         | QM        | F         |
|--------------------------------|-----|------------|-----------|-----------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1   | 19590.122  | 19590.122 | 338.53 ** |
| Doses (D)                      | 4   | 15112.587  | 3778.147  | 65.29 **  |
| Tempo (T)                      | 4   | 26190.783  | 6547.696  | 113.15 ** |
| CA x D                         | 4   | 11817.291  | 2954.323  | 51.05 **  |
| CA x T                         | 4   | 10800.127  | 2700.032  | 46.66 **  |
| D x T                          | 16  | 14937.197  | 933.575   | 16.16 **  |
| CA x D x T                     | 16  | 9315.045   | 582.190   | 10.06 **  |
| Tratamento                     | 49  | 107763.152 | 2199.248  | 38.00 **  |
| Resíduo                        | 150 | 8680.090   | 57.867    |           |
| Total                          | 199 | 116443.242 |           |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q. – Soma dos quadrados; Q.M. – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A10.** Análise de variância da incidência de *Penicillium* nas sementes de amendoim da cv. BRS Havana tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| F.V.                           | GL  | SQ        | QM        | F          |
|--------------------------------|-----|-----------|-----------|------------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1   | 1151.040  | 1151.040  | 138.34 **  |
| Doses (D)                      | 4   | 87.961    | 21.990    | 2.64 *     |
| Tempo (T)                      | 4   | 48122.473 | 12030.618 | 1445.98 ** |
| CA x D                         | 4   | 67.761    | 16.940    | 2.04 ns    |
| CA x T                         | 4   | 4148.761  | 1037.190  | 124.66 **  |
| D x T                          | 16  | 411.243   | 25.703    | 3.09 **    |
| CA x D x T                     | 16  | 231.443   | 14.465    | 1.74 *     |
| Tratamento                     | 49  | 54220.682 | 1106.544  | 132.99 **  |
| Resíduo                        | 150 | 1248.010  | 8.320     |            |
| Total                          | 199 | 55468.692 |           |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q. – Soma dos quadrados; Q.M. – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A11.** Análise de variância dos valores médios de umidade das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.             | GL  | SQ      | QM     | F          |
|------------------|-----|---------|--------|------------|
| Procedimento (P) | 1   | 14.552  | 14.552 | 707.94 **  |
| Doses (D)        | 4   | 0.340   | 0.085  | 4.14 **    |
| Tempo (T)        | 5   | 165.766 | 33.153 | 1612.86 ** |
| P x D            | 4   | 0.132   | 0.033  | 1.61 ns    |
| P x T            | 5   | 10.980  | 2.196  | 106.84 **  |
| D x T            | 20  | 4.065   | 0.203  | 9.89 **    |
| P x D x T        | 20  | 0.944   | 0.047  | 2.30 **    |
| Tratamento       | 59  | 196.780 | 3.335  | 162.26 **  |
| Resíduo          | 120 | 2.467   | 0.020  |            |
| Total            | 179 | 199.247 |        |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A12.** Análise de variância da incidência de *A. flavus* nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| FV               | GL  | SQ         | QM        | F          |
|------------------|-----|------------|-----------|------------|
| Procedimento (P) | 1   | 35041.667  | 35041.667 | 1704.73 ** |
| Doses (D)        | 4   | 2187.500   | 546.875   | 26.60 **   |
| Tempo (T)        | 5   | 72913.333  | 14582.667 | 709.43 **  |
| P x D            | 4   | 2187.500   | 546.875   | 26.60 **   |
| P x T            | 5   | 10913.333  | 2182.667  | 106.18 **  |
| D x T            | 20  | 5107.500   | 255.37    | 12.42 **   |
| P x D x T        | 20  | 5107.500   | 255.375   | 12.42 **   |
| Tratamento       | 59  | 133458.333 | 2262.006  | 110.04 **  |
| Resíduo          | 180 | 3700.000   | 20.555    |            |
| Total            | 239 | 137158.333 |           |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A13.** Análise de variância da incidência de *A. niger* nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| FV               | GL  | SQ        | QM        | F         |
|------------------|-----|-----------|-----------|-----------|
| Procedimento (P) | 1   | 21110.628 | 21110.628 | 784.05 ** |
| Doses (D)        | 4   | 2497.558  | 624.389   | 23.19 **  |
| Tempo (T)        | 5   | 6414.069  | 1282.814  | 47.64 **  |
| P x D            | 4   | 2497.558  | 624.389   | 23.19 **  |
| P x T            | 5   | 4429.54   | 885.908   | 32.90 **  |
| D x T            | 20  | 2513.471  | 125.673   | 4.67 **   |
| P x D x T        | 20  | 2513.471  | 125.673   | 4.67 **   |
| Tratamento       | 59  | 41976.294 | 711.463   | 26.42 **  |
| Resíduo          | 180 | 4846.517  | 26.925    |           |
| Total            | 239 | 46822.812 |           |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A14.** Análise de variância da incidência de *Rhizopus* nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| FV               | GL  | SQ        | QM        | F          |
|------------------|-----|-----------|-----------|------------|
| Procedimento (P) | 1   | 25668.017 | 25668.017 | 2602.95 ** |
| Doses (D)        | 4   | 2058.527  | 514.632   | 52.19 **   |
| Tempo (T)        | 5   | 19962.203 | 3992.441  | 404.87 **  |
| P x D            | 4   | 2058.527  | 514.632   | 52.19 **   |
| P x T            | 5   | 19962.203 | 3992.441  | 404.87 **  |
| D x T            | 20  | 3525.153  | 176.258   | 17.87 **   |
| P x D x T        | 20  | 3525.153  | 176.258   | 17.87 **   |
| Tratamento       | 59  | 76759.783 | 1301.013  | 131.93 **  |
| Resíduo          | 180 | 1775.000  | 9.861     |            |
| Total            | 239 | 78534.783 |           |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A15.** Análise de variância da incidência de *Penicillium* nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.       | GL  | SQ        | QM       | F         |
|------------|-----|-----------|----------|-----------|
| Doses (D)  | 4   | 565.219   | 141.305  | 14.53 **  |
| Tempo (T)  | 5   | 6728.471  | 1345.694 | 138.41 ** |
| D x T      | 20  | 5387.309  | 269.365  | 27.71 **  |
| Tratamento | 29  | 12680.999 | 437.276  | 44.98 **  |
| Resíduo    | 90  | 875.000   | 9.722    |           |
| Total      | 119 | 13555.999 |          |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A16.** Análise de variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.             | GL  | SQ         | QM        | F          |
|------------------|-----|------------|-----------|------------|
| Procedimento (P) | 1   | 25131.020  | 25131.020 | 3314.92 ** |
| Doses (D)        | 4   | 3162.422   | 790.605   | 104.28 **  |
| Tempo (T)        | 5   | 109279.118 | 21855.823 | 2882.90 ** |
| P x D            | 4   | 2716.571   | 679.142   | 89.58 **   |
| P x T            | 5   | 7000.477   | 1400.095  | 184.68 **  |
| D x T            | 20  | 1878.008   | 93.900    | 12.38 **   |
| P x D x T        | 20  | 2420.479   | 121.023   | 15.96 **   |
| Tratamento       | 59  | 151588.099 | 2569.289  | 338.90 **  |
| Resíduo          | 180 | 1364.612   | 7.581     |            |
| Total            | 239 | 152952.711 |           |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A17.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1, não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.                 | GL  | SQ        | QM        | F         |
|----------------------|-----|-----------|-----------|-----------|
| Regressão linear     | 1   | 39463.920 | 39463.920 | 1334.01** |
| Regressão quadrática | 1   | 2203.438  | 2203.438  | 74.48**   |
| Regressão cúbica     | 1   | 1.440     | 1.440     | 0.04 ns   |
| Regressão 4º grau    | 1   | 763.778   | 763.778   | 25.81**   |
| Regressão 5º grau    | 1   | 108.064   | 108.064   | 3.65 ns   |
| Tratamento           | 5   | 42540.641 | 8508.128  | 287.60    |
| Resíduo              | 114 | 3372.450  | 29.582    |           |
| Total                | 119 | 45913.091 |           |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A18.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1, inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.                 | GL  | SQ        | QM        | F        |
|----------------------|-----|-----------|-----------|----------|
| Regressão linear     | 1   | 57855.857 | 57855.857 | 807.32** |
| Regressão quadrática | 1   | 10740.865 | 10740.865 | 149.87** |
| Regressão cúbica     | 1   | 2728.147  | 2728.147  | 38.06**  |
| Regressão 4º grau    | 1   | 2232.406  | 2232.406  | 31.15**  |
| Regressão 5º grau    | 1   | 181.678   | 181.678   | 2.53 ns  |
| Tratamento           | 5   | 73738.954 | 14747.790 |          |
| Resíduo              | 114 | 8169.645  | 71.663    |          |
| Total                | 119 | 81908.599 |           |          |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste



**Tabela A19.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 sem tratamento, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.                 | GL | SQ        | QM        | F        |
|----------------------|----|-----------|-----------|----------|
| Regressão linear     | 1  | 17944.464 | 17944.464 | 168.36** |
| Regressão quadrática | 1  | 1646.880  | 1646.880  | 15.45**  |
| Regressão cúbica     | 1  | 111.111   | 111.111   | 1.04 ns  |
| Regressão 4º grau    | 1  | 10.285    | 10.285    | 0.09 ns  |
| Regressão 5º grau    | 1  | 74.674    | 74.674    | 0.70 ns  |
| Tratamento           | 5  | 19787.416 | 3957.483  | 37.13    |
| Resíduo              | 42 | 4476.500  | 106.583   |          |
| Total                | 47 | 24263.91  |           |          |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A20.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 10mL, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.                 | GL | SQ        | QM        | F       |
|----------------------|----|-----------|-----------|---------|
| Regressão linear     | 1  | 19106.144 | 19106.144 | 48.31** |
| Regressão quadrática | 1  | 4243.110  | 4243.110  | 10.72** |
| Regressão cúbica     | 1  | 883.600   | 883.600   | 2.23 ns |
| Regressão 4º grau    | 1  | 0.021     | 0.021     | 0.00 ns |
| Regressão 5º grau    | 1  | 26.882    | 26.882    | 0.06 ns |
| Tratamento           | 5  | 24259.759 | 4851.951  | 12.2683 |
| Resíduo              | 42 | 16610.457 | 395.487   |         |
| Total                | 47 | 40870.216 |           |         |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A21.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 40mL, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.                 | GL | SQ        | QM        | F        |
|----------------------|----|-----------|-----------|----------|
| Regressão linear     | 1  | 19623.616 | 19623.616 | 141.30** |
| Regressão quadrática | 1  | 750.148   | 750.148   | 5.40*    |
| Regressão cúbica     | 1  | 75.625    | 75.625    | 0.54 ns  |
| Regressão 4º grau    | 1  | 200.642   | 200.642   | 1.44 ns  |
| Regressão 5º grau    | 1  | 34.571    | 34.571    | 0.24 ns  |
| Tratamento           | 5  | 20684.604 | 4136.920  | 29.788   |
| Resíduo              | 42 | 5832.875  | 138.877   |          |
| Total                | 47 | 26517.479 |           |          |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A22.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 70mL, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.                 | GL | SQ        | QM        | F        |
|----------------------|----|-----------|-----------|----------|
| Regressão linear     | 1  | 16291.821 | 16291.821 | 111.26** |
| Regressão quadrática | 1  | 2501.357  | 2501.357  | 17.08**  |
| Regressão cúbica     | 1  | 396.375   | 396.375   | 2.70 ns  |
| Regressão 4º grau    | 1  | 122.277   | 122.277   | 0.83 ns  |
| Regressão 5º grau    | 1  | 50.318    | 50.318    | 0.34 ns  |
| Tratamento           | 5  | 19362.151 | 3872.430  | 26.44    |
| Resíduo              | 42 | 6149.718  | 146.421   |          |
| Total                | 47 | 25511.869 |           |          |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A23.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 100mL, inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, durante 12 meses de armazenamento

| F.V.                 | GL | SQ        | QM        | F        |
|----------------------|----|-----------|-----------|----------|
| Regressão linear     | 1  | 23873.680 | 23873.680 | 180.22** |
| Regressão quadrática | 1  | 3020.915  | 3020.915  | 22.80**  |
| Regressão cúbica     | 1  | 139.626   | 139.626   | 1.05 ns  |
| Regressão 4º grau    | 1  | 7.431     | 7.431     | 0.05 ns  |
| Regressão 5º grau    | 1  | 21.542    | 21.542    | 0.16 ns  |
| Tratamento           | 5  | 27063.196 | 5412.639  | 40.86    |
| Resíduo              | 42 | 5563.610  | 132.466   |          |
| Total                | 47 | 32626.806 |           |          |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A24.** Análise de variância dos valores médios de umidade das sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| F.V.                           | GL      | SQ    | QM     | F          |
|--------------------------------|---------|-------|--------|------------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1       | 1.017 | 1.017  | 37.19 **   |
| Doses (D)                      | 4       | 0.321 | 0.322  | 11.77 **   |
| Tempo (T)                      | 5       | 36.22 | 36.223 | 1324.66 ** |
| CA x D                         | 4       | 0.199 | 0.199  | 7.28 **    |
| CA x T                         | 5       | 1.997 | 1.997  | 73.03 **   |
| D x T                          | 20      | 0.687 | 0.688  | 25.16 **   |
| CA x D x T                     | 20      | 0.271 | 0.271  | 9.92 **    |
| Tratamento                     | 59      | 3.617 | 3.617  | 132.26 **  |
| Resíduo                        | 120     | 0.027 | 0.027  |            |
| Total                          | 216.669 |       |        |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A25.** Análise de variância da incidência de *A. flavus* nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| F.V.                           | GL  | SQ         | QM         | F          |
|--------------------------------|-----|------------|------------|------------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1   | 231962.490 | 231962.490 | 7872.62 ** |
| Doses (D)                      | 4   | 4467.720   | 1116.930   | 37.91 **   |
| Tempo (T)                      | 5   | 15858.623  | 3171.725   | 107.65 **  |
| CA x D                         | 4   | 974.470    | 243.617    | 8.27 **    |
| CA x T                         | 5   | 8842.890   | 1768.578   | 60.02 **   |
| D x T                          | 20  | 6957.884   | 347.894    | 11.81 **   |
| CA x D x T                     | 20  | 5208.534   | 260.427    | 8.84 **    |
| Tratamento                     | 59  | 274272.610 | 4648.688   | 157.77 **  |
| Resíduo                        | 180 | 5303.602   | 29.464     |            |
| Total                          | 239 | 279576.213 |            |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A26.** Análise de variância da incidência de *A. niger* nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| FV                             | GL  | SQ        | QM        | F         |
|--------------------------------|-----|-----------|-----------|-----------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1   | 22659.267 | 22659.267 | 771.15 ** |
| Doses (D)                      | 4   | 3202.533  | 800.633   | 27.25 **  |
| Tempo (T)                      | 5   | 2423.335  | 484.667   | 16.49 **  |
| CA x D                         | 4   | 1977.382  | 494.346   | 16.82 **  |
| CA x T                         | 5   | 1363.515  | 272.703   | 9.28 **   |
| D x T                          | 20  | 2978.834  | 148.941   | 5.07 **   |
| CA x D x T                     | 20  | 2511.958  | 125.598   | 4.27 **   |
| Tratamento                     | 59  | 37116.825 | 629.099   | 21.41 **  |
| Resíduo                        | 180 | 5289.055  | 29.384    |           |
| Total                          | 239 | 42405.880 |           |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A27.** Análise de variância da incidência de *Rhizopus* nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| FV                             | GL  | SQ        | QM        | F          |
|--------------------------------|-----|-----------|-----------|------------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1   | 16094.988 | 16094.988 | 1108.70 ** |
| Doses (D)                      | 4   | 1907.906  | 476.976   | 32.86 **   |
| Tempo (T)                      | 5   | 18753.059 | 3750.612  | 258.36 **  |
| CA x D                         | 4   | 3244.979  | 811.245   | 55.88 **   |
| CA x T                         | 5   | 21839.711 | 4367.942  | 300.89 **  |
| D x T                          | 20  | 7280.252  | 364.013   | 25.07 **   |
| CA x D x T                     | 20  | 3700.187  | 185.009   | 12.74 **   |
| Tratamento                     | 59  | 72821.082 | 1234.256  | 85.02 **   |
| Resíduo                        | 180 | 2613.05   | 14.517    |            |
| Total                          | 239 | 75434.132 |           |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A28.** Análise de variância da incidência de *Penicillium* nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| F.V.       | GL  | SQ        | QM       | F        |
|------------|-----|-----------|----------|----------|
| Doses (D)  | 4   | 497.085   | 124.271  | 8.60 **  |
| Tempo (T)  | 5   | 6123.771  | 1224.754 | 84.79 ** |
| D x T      | 20  | 5215.843  | 260.792  | 18.05 ** |
| Tratamento | 29  | 11836.699 | 408.162  | 28.26 ** |
| Resíduo    | 90  | 1300.000  | 14.444   |          |
| Total      | 119 | 13136.699 |          |          |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A29.** Análise de variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| F.V.                           | GL  | SQ         | QM         | F           |
|--------------------------------|-----|------------|------------|-------------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1   | 141766.204 | 141766.204 | 23002.06 ** |
| Doses (D)                      | 4   | 412.806    | 103.201    | 16.74 **    |
| Tempo (T)                      | 5   | 23301.120  | 4660.224   | 756.13 **   |
| CA x D                         | 4   | 479.389    | 119.847    | 19.44 **    |
| CA x T                         | 5   | 19397.420  | 3879.484   | 629.46 **   |
| D x T                          | 20  | 847.681    | 42.384     | 6.87 **     |
| CA x D x T                     | 20  | 865.797    | 43.289     | 7.02 **     |
| Tratamento                     | 59  | 187070.420 | 3170.685   | 514.45 **   |
| Resíduo                        | 180 | 1109.375   | 6.163      |             |
| Total                          | 239 | 188179.795 |            |             |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A30.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1, armazenadas fora do fruto, durante 12 meses

| F.V.                 | GL  | SQ        | QM        | F         |
|----------------------|-----|-----------|-----------|-----------|
| Regressão linear     | 1   | 39463.920 | 39463.920 | 1334.01** |
| Regressão quadrática | 1   | 2203.438  | 2203.438  | 74.48**   |
| Regressão cúbica     | 1   | 1.440     | 1.440     | 0.04 ns   |
| Regressão 4º grau    | 1   | 763.778   | 763.778   | 25.81**   |
| Regressão 5º grau    | 1   | 108.064   | 108.064   | 3.65 ns   |
| Tratamento           | 5   | 42540.641 | 8508.128  | 287.60    |
| Resíduo              | 114 | 3372.450  | 29.582    |           |
| Total                | 119 | 45913.091 |           |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A31.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1, armazenadas dentro do fruto, durante 12 meses

| F.V.                 | GL  | SQ      | QM     | F       |
|----------------------|-----|---------|--------|---------|
| Regressão linear     | 1   | 47.545  | 47.545 | 15.82** |
| Regressão quadrática | 1   | 82.371  | 82.371 | 27.40** |
| Regressão cúbica     | 1   | 0.284   | 0.284  | 0.09 ns |
| Regressão 4º grau    | 1   | 24.028  | 24.028 | 7.99**  |
| Regressão 5º grau    | 1   | 3.669   | 3.669  | 1.22 ns |
| Tratamento           | 5   | 157.900 | 31.580 | 10.50   |
| Resíduo              | 114 | 342.600 | 3.005  |         |
| Total                | 119 | 500.500 |        |         |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A32.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 sem tratamento, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| F.V.                 | GL | SQ        | QM       | F       |
|----------------------|----|-----------|----------|---------|
| Regressão linear     | 1  | 5406.428  | 5406.428 | 6.65*   |
| Regressão quadrática | 1  | 378.000   | 378.000  | 0.46 ns |
| Regressão cúbica     | 1  | 46.944    | 46.944   | 0.05 ns |
| Regressão 4º grau    | 1  | 350.000   | 350.000  | 0.43 ns |
| Regressão 5º grau    | 1  | 295.626   | 295.626  | 0.36 ns |
| Tratamento           | 5  | 6477.000  | 1295.400 | 1.59    |
| Resíduo              | 42 | 33135.000 | 812.738  |         |
| Total                | 47 | 40612.000 |          |         |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A33.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 10mL, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| F.V.                 | GL | SQ        | QM       | F       |
|----------------------|----|-----------|----------|---------|
| Regressão linear     | 1  | 4226.754  | 4226.754 | 5.75*   |
| Regressão quadrática | 1  | 162.545   | 162.545  | 0.22 ns |
| Regressão cúbica     | 1  | 0.126     | 0.126    | 0.00 *  |
| Regressão 4º grau    | 1  | 109.340   | 109.340  | 0.14 ns |
| Regressão 5º grau    | 1  | 2.260     | 2.260    | 0.00 ns |
| Tratamento           | 5  | 4501.026  | 900.205  | 1.22    |
| Resíduo              | 42 | 30860.968 | 734.784  |         |
| Total                | 47 | 35361.994 |          |         |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A34.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 40mL, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| F.V.                 | GL | SQ        | QM       | F       |
|----------------------|----|-----------|----------|---------|
| Regressão linear     | 1  | 3832.544  | 3832.544 | 5.58*   |
| Regressão quadrática | 1  | 61.928    | 61.928   | 0.09 ns |
| Regressão cúbica     | 1  | 2.500     | 2.500    | 0.00 ns |
| Regressão 4º grau    | 1  | 24.446    | 24.446   | 0.03 ns |
| Regressão 5º grau    | 1  | 15.017    | 15.017   | 0.02 ns |
| Tratamento           | 5  | 3936.437  | 787.287  | 1.14    |
| Resíduo              | 42 | 28797.875 | 685.663  |         |
| Total                | 47 | 32734.312 |          |         |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste



**Tabela A35.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 70mL, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| F.V.                 | GL | SQ        | QM       | F       |
|----------------------|----|-----------|----------|---------|
| Regressão linear     | 1  | 3076.171  | 3076.171 | 4.33*   |
| Regressão quadrática | 1  | 511.878   | 511.878  | 0.72 ns |
| Regressão cúbica     | 1  | 17.226    | 17.226   | 0.02 ns |
| Regressão 4º grau    | 1  | 34.965    | 34.965   | 0.04 ns |
| Regressão 5º grau    | 1  | 0.492     | 0.492    | 0.00*   |
| Tratamento           | 5  | 3640.734  | 728.146  | 1.0265  |
| Resíduo              | 42 | 29791.468 | 709.320  |         |
| Total                | 47 | 33432.203 |          |         |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A36.** Análise de regressão da variância dos valores médios da germinação nas sementes de amendoim da cv. BR 1 tratadas com extrato hidroalcoólico de sucupira na dose de 100mL, armazenadas dentro e fora do fruto, durante 12 meses

| F.V.                 | GL | SQ        | QM       | F       |
|----------------------|----|-----------|----------|---------|
| Regressão linear     | 1  | 4773.616  | 4773.616 | 5.00*   |
| Regressão quadrática | 1  | 670.001   | 670.001  | 0.70 ns |
| Regressão cúbica     | 1  | 3.906     | 3.906    | 0.00 ns |
| Regressão 4º grau    | 1  | 130.540   | 130.540  | 0.13 ns |
| Regressão 5º grau    | 1  | 15.540    | 15.540   | 0.01 ns |
| Tratamento           | 5  | 5593.604  | 1118.720 | 1.17    |
| Resíduo              | 42 | 40032.875 | 953.163  |         |
| Total                | 47 | 45626.479 |          |         |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A37.** Análise de variância dos valores médios de umidade das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| F.V.                           | GL | SQ     | QM     | F          |
|--------------------------------|----|--------|--------|------------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1  | 30.226 | 30.226 | 1356.88 ** |
| Tempo (T)                      | 6  | 20.048 | 3.341  | 149.99 **  |
| CA x T                         | 6  | 19.288 | 3.215  | 144.31 **  |
| Tratamento                     | 13 | 69.562 | 5.351  | 240.21 **  |
| Resíduo                        | 28 | 0.624  | 0.022  |            |
| Total                          | 41 | 70.186 |        |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A38.** Análise de variância dos valores médios de germinação das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| F.V.                           | GL | SQ        | QM       | F          |
|--------------------------------|----|-----------|----------|------------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 3  | 5659.375  | 1886.458 | 303.85 **  |
| Tempo (T)                      | 1  | 8646.125  | 8646.125 | 1392.66 ** |
| CA x T                         | 3  | 4818.375  | 1606.125 | 258.70 **  |
| Tratamento                     | 7  | 19123.875 | 2731.982 | 440.05 **  |
| Resíduo                        | 24 | 149.000   | 6.208    |            |
| Total                          | 31 | 19272,875 |          |            |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A39.** Análise de regressão da variância dos valores médios de germinação das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas, por 12 meses

| F.V.                 | GL | SQ     | QM     | F         |
|----------------------|----|--------|--------|-----------|
| Regressão linear     | 1  | 18.050 | 18.050 | 14.440 ** |
| Regressão quadrática | 1  | 0.250  | 0.250  | 0.20 ns   |
| Regressão cúbica     | 1  | 2.450  | 2.450  | 1.960 **  |
| Tratamento           | 3  | 20.750 | 6.916  | 5.533     |
| Resíduo              | 12 | 15.000 | 1.250  |           |
| Total                | 15 | 35.750 |        |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A40.** Análise de regressão da variância dos valores médios de germinação das sementes de amendoim da cv. BR Havana armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| F.V.                 | GL | SQ        | QM        | F         |
|----------------------|----|-----------|-----------|-----------|
| Regressão linear     | 1  | 10396.800 | 10396.800 | 931.06 ** |
| Regressão quadrática | 1  | 9.000     | 9.000     | 0.806 ns  |
| Regressão cúbica     | 1  | 51.200    | 51.200    | 4.585 ns  |
| Tratamento           | 3  | 10457.000 | 3485.667  | 312.15    |
| Resíduo              | 12 | 134.000   | 11.167    |           |
| Total                | 15 | 10591.000 |           |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A41.** Análise de variância dos valores médios do comprimento de plântulas das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| F.V.                           | GL | SQ     | QM    | F         |
|--------------------------------|----|--------|-------|-----------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 3  | 26.222 | 8.741 | 139.45 ** |
| Tempo (T)                      | 1  | 8.120  | 8.120 | 129.56 ** |
| CA x T                         | 3  | 17.537 | 5.846 | 93.26 **  |
| Tratamento                     | 7  | 51.879 | 7.411 | 118.24 ** |
| Resíduo                        | 24 | 1.504  | 0.063 |           |
| Total                          | 31 | 53.38  |       |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A42.** Análise de regressão da variância dos valores médios de comprimento de plântula de sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas, por 12 meses

| F.V.                 | GL | SQ    | QM    | F       |
|----------------------|----|-------|-------|---------|
| Regressão linear     | 1  | 0.435 | 0.435 | 5.54 *  |
| Regressão quadrática | 1  | 0.029 | 0.029 | 0.37 ns |
| Regressão cúbica     | 1  | 0.061 | 0.061 | 0.77 ns |
| Tratamento           | 3  | 0.524 | 0.175 | 2.228   |
| Resíduo              | 12 | 0.942 | 0.078 |         |
| Total                | 15 | 1.467 |       |         |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A43.** Análise de regressão da variância dos valores médios do comprimento das plântulas de sementes de amendoim da cv. BR Havana armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| F.V.                 | GL | SQ      | QM      | F         |
|----------------------|----|---------|---------|-----------|
| Regressão linear     | 1  | 33.4370 | 33.4370 | 713.13 ** |
| Regressão quadrática | 1  | 9.7969  | 9.7969  | 208.94 ** |
| Regressão cúbica     | 1  | 0.0002  | 0.0002  | 0.005 ns  |
| Tratamento           | 3  | 43.2341 | 14.4114 | 307.36    |
| Resíduo              | 12 | 0.5626  | 0.0469  |           |
| Total                | 15 | 43.7968 |         |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A44.** Análise de variância dos valores médios da matéria seca das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| F.V.                           | GL | SQ     | QM      | F         |
|--------------------------------|----|--------|---------|-----------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 3  | 0.0148 | 0.0049  | 101.24 ** |
| Tempo (T)                      | 1  | 0.0053 | 0.0053  | 109.32 ** |
| CA x T                         | 3  | 0.0038 | 0.0013  | 25.96 **  |
| Tratamento                     | 7  | 0.0239 | 0.0034  | 70.13 **  |
| Resíduo                        | 24 | 0.0011 | 0.00005 |           |
| Total                          | 31 | 0.0251 |         |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A45.** Análise de regressão da variância dos valores médios da matéria seca das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas, por 12 meses

| F.V.                 | GL | SQ      | QM      | F        |
|----------------------|----|---------|---------|----------|
| Regressão linear     | 1  | 0.00145 | 0.00145 | 33.97 ** |
| Regressão quadrática | 1  | 0.00087 | 0.00087 | 20.46 ** |
| Regressão cúbica     | 1  | 0.00002 | 0.00002 | 0.47 ns  |
| Tratamento           | 3  | 0.00234 | 0.00078 | 18.30    |
| Resíduo              | 12 | 0.00051 | 0.00004 |          |
| Total                | 15 |         |         |          |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A46.** Análise de regressão da variância dos valores médios da matéria seca de sementes de amendoim da cv. BR Havana armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| F.V.                 | GL | SQ      | QM      | F         |
|----------------------|----|---------|---------|-----------|
| Regressão linear     | 1  | 0.01532 | 0.01532 | 278.62 ** |
| Regressão quadrática | 1  | 0.00059 | 0.00059 | 10.70 **  |
| Regressão cúbica     | 1  | 0.00037 | 0.00037 | 6.65 *    |
| Tratamento           | 3  | 0.01627 | 0.00542 | 98.65     |
| Resíduo              | 12 | 0.00066 | 0.00005 |           |
| Total                | 15 | 0.01693 |         |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A47.** Análise de variância da incidência de *A. flavus* das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| F.V.                           | GL | SQ        | QM       | F         |
|--------------------------------|----|-----------|----------|-----------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1  | 516.071   | 516.071  | 11.88 **  |
| Tempo (T)                      | 6  | 27242.857 | 4540.476 | 104.49 ** |
| CA x T                         | 6  | 3871.428  | 645.238  | 14.85 **  |
| Tratamento                     | 13 | 31630.357 | 2433.104 | 55.99 **  |
| Resíduo                        | 42 | 1825.000  | 43.452   |           |
| Total                          | 55 | 33455.357 |          |           |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A48.** Análise de variância da incidência de *Rizophus* das sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| F.V.                           | GL | SQ        | QM       | F        |
|--------------------------------|----|-----------|----------|----------|
| Condição de Armazenamento (CA) | 1  | 3001.786  | 3001.786 | 82.67 ** |
| Tempo (T)                      | 6  | 4871.428  | 811.905  | 22.36 ** |
| CA x T                         | 6  | 7985.714  | 1330.952 | 36.65 ** |
| Tratamento                     | 13 | 15858.928 | 1219.917 | 33.60 ** |
| Resíduo                        | 42 | 1525.000  | 36.309   |          |
| Total                          | 55 | 17383.928 |          |          |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A49.** Análise de variância da quantidade de aflatoxina B<sub>1</sub> nas sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| F.V.       | GL | SQ       | QM       | F             |
|------------|----|----------|----------|---------------|
| Doses (D)  | 1  | 1941.268 | 1941.268 | 1008450.94 ** |
| Tempo (T)  | 1  | 263.122  | 263.122  | 136686.65 **  |
| D x T      | 1  | 263.122  | 263.122  | 136686.65 **  |
| Tratamento | 3  | 2467.512 | 822.509  | 427274.74 **  |
| Resíduo    | 4  | 0.008    | 0.00192  |               |
| Total      | 7  | 2467.519 |          |               |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste

**Tabela A50.** Análise de variância da quantidade de aflatoxina B<sub>2</sub> nas sementes de amendoim da cv. BR Havana crioconservadas e armazenadas em ambiente natural, por 12 meses

| F.V.       | GL | SQ       | QM       | F             |
|------------|----|----------|----------|---------------|
| Doses (D)  | 1  | 1805.704 | 1805.704 | 3523325.88 ** |
| Tempo (T)  | 1  | 805.810  | 805.810  | 1572313.19 ** |
| D x T      | 1  | 805.810  | 805.810  | 1572313.19 ** |
| Tratamento | 3  | 3417.326 | 1139.108 | 2222650.76    |
| Resíduo    | 4  | 0.0021   | 0.0005   |               |
| Total      | 7  | 3417.328 |          |               |

ns – não significativo

\* – significativo a nível de 5% de probabilidade

\*\* – significativo a nível de 1% de probabilidade

G.L. – Grau de liberdade; S.Q – Soma dos quadrados; Q.M – Quadrado médio; F – Variável do teste