



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA AGRÍCOLA
COPEAG - COORD. DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENG. AGRÍCOLA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

Dissertação de Mestrado

**COMPORTAMENTO DA MICROFLORA E DA AFLATOXINA
EM SEMENTES DE AMENDOIM TRATADAS COM
EXTRATOS VEGETAIS E IRRADIAÇÃO GAMA**

NIÉDJA MARIZZE CEZAR ALVES

**Campina Grande
Paraíba**



**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**

**COMPORTAMENTO DA MICROFLORA E DA AFLATOXINA EM SEMENTES DE
AMENDOIM TRATADAS COM EXTRATOS VEGETAIS E IRRADIAÇÃO GAMA**

NIÉDJA MARIZZE CEZAR ALVES

Campina Grande - Paraíba

NOVEMBRO - 2008

**COMPORTAMENTO DA MICROFLORA E DA AFLATOXINA EM SEMENTES DE
AMENDOIM TRATADAS COM EXTRATOS VEGETAIS E IRRADIAÇÃO GAMA**

NIÉDJA MARIZZE CEZAR ALVES

**Dissertação apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Engenharia
Agrícola da Universidade Federal de
Campina Grande, como parte dos
requisitos necessários para a 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

Prof. Dr. Josivanda Palmeira Gomes

Campina Grande - Paraíba

NOVEMBRO – 2008



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCCG

A474c

2008 Alves, Niédja Marizze Cezar.

Comportamento da micoflora e da aflatoxina em sementes de amendoim tratados com extratos vegetais e irradiação gama / Niédja Marizze Cezar Alves. — Campina Grande, 2008.

125f. : il. Color.

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

Referências.

Orientadores: Prof. Dr. Francisco de Assis Cardoso, Profª. Drª. Josivanda Palmeira Gomes.

1. *Aspergillus flavus*. 2. Micotoxinas. 3. Armazenamento. I. Título.

CDU – 631.563(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA



PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA DISSERTAÇÃO DA MESTRANDA

NIÉDJA MARIZZE CEZAR ALVES

COMPORTAMENTO DA MICROFLORA E DA AFLATOXINA EM SEMENTES DE AMENDOIM
TRATADOS COM EXTRATOS VEGETAIS E IRRADIAÇÃO GAMA

BANCA EXAMINADORA

Dr. Francisco de Assis Cardoso Almeida – Orientador

PARECER

Aprovado

Josivanda P. Gomes
Dra. Josivanda Palmeira Gomes – Orientadora

Aprovado

João Felinto dos Santos
Dr. João Felinto dos Santos – Examinador

APROVADO

Kátia Cristina de Oliveira Gurjão
Dra Kátia Cristina de Oliveira Gurjão.– Examinadora

APROVADO

NOVEMBRO - 2008

*A meus queridos pais, Ediberto Alves de Sousa (in memoriam) e
Maria Elza Cezar Alves, por toda a vida de amor dedicada aos filhos.
A minha filha Maria Eduarda, e meu esposo Artur,
Por todo o incentivo, carinho e amor.*

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

A meu Deus, por mais esta oportunidade em minha vida; obrigada, Senhor!

Aos professores orientadores, Dr. Francisco de Assis Cardoso Almeida e Dr^a. Josivanda Palmeira Gomes, pelo apoio, paciência, dedicação e pelo exemplar modelo de integridade e determinação como professores pesquisadores, a quem seguirei admirando sempre.

A toda minha família, pelo apoio incondicional, em especial a minha querida tia, Maria do Socorro Cezar (*in memoriam*).

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola.

A UFCG, pelo apoio.

A pesquisadora Dra. Rosa Maria Mendes Freire, pela colaboração nos trabalhos durante a condução dos experimentos na EMBRAPA Algodão.

A EMBRAPA Algodão, pela oportunidade do estágio e realização dos experimentos.

Ao Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco, na pessoa da Professora Dra. Helen Khoury.

A CAPES, pela bolsa de estudo.

A todos os amigos, pela amizade, lealdade, companheirismo e convivência agradável.

A funcionária do Laboratório de Fitopatologia da UFPB, Francisca, pelos serviços prestados.

Aos amigos: Cláudia (PIBIC Jr.), Dyalla, Simone e Thiago, pelo auxílio na realização dos trabalhos.

A todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
RESUMO	viii
1- INTRODUÇÃO.....	1
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 - Espécies estudadas.....	4
2.2 – Micoflora em sementes armazenadas.....	7
2.3 - <i>Aspergillus</i> sp.....	10
2.4 - Micotoxinas.....	10
2.5 - Aflatoxina.....	12
2.6 - Determinação da aflatoxina.....	15
2.7 - Extratos vegetais.....	16
2.8 - Armazenamento.....	17
2.9 - Umidade	17
2.10 - Temperatura	18
2.11 – Embalagem.....	19
2.12 – Germinação.....	20
2.13 - Espécies vegetais estudadas.....	21
2.14 – Irradiação.....	23
3 – MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1 - Local de realização do trabalho.....	25
3.2 - Obtenção da matéria-prima.....	25
3.3 - Determinação da micoflora e isolamento do <i>Aspergillus flavus</i>	25
3.4 - Obtenção dos extratos.....	26
3.5 - Tratamento das sementes.....	27
3.6 - Realização das análises: cultivar BRS Havana.....	28
3.6.1 - Teor de umidade.....	28

3.6.2 - Determinação e avaliação da micoflora.....	28
3.6.3 - Determinação da aflatoxina.....	29
3.6.4 - Delineamento estatístico.....	32
3.7. - Realização das análises: cultivar BR1.....	33
3.7.1 - Teste de germinação.....	33
3.7.2 - Delineamento estatístico.....	34
3.8. - Tratamento das sementes com irradiação de cobalto – 60.....	34
3.8.2 - Delineamento estatístico.....	35
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 – Cultivar BRS Havana.....	36
4.1.1 - Teor de umidade.....	36
4.1.2 - Micoflora das sementes de amendoim.....	37
4.1.3 - Aflaroxina em sementes de amendoim cultivar BRS Havana.....	45
4.2 – Cultivar BR1.....	50
4.2.1 - Teor de umidade.....	50
4.2.2 - Micoflora das sementes de amendoim.....	51
4.2.3 - Germinação das sementes de amendoim tratadas com extratos vegetais..	57
4.3 – Resultado do tratamento das sementes com ⁶⁰ Co.....	65
4.3.1 - Teor de umidade.....	65
4.3.2 - Micoflora das sementes de amendoim irradiadas com ⁶⁰ Co.....	66
4.3.3 - Germinação das sementes de amendoim irradiadas com ⁶⁰ Co.....	72
5 - CONCLUSÕES.....	78
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
APÊNDICE.....	93

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Estrutura química das aflatoxinas	12
Figura 3.1 - Percolador utilizado na obtenção dos extratos.....	27
Figura 3.2 - Determinação e avaliação da micoflora em semente de amendoim.....	29
Figura 3.3 - Extração e desengorduramento das amostras.....	30
Figura 3.4 - Esquema representado uma placa unidimensional de CCD (cromatografia em camada delgada).....	31
Figura 3.5 - Amostras de amendoim contaminadas com Aflatoxina B ₁ , para teste de recuperação.....	32
Figura 4.1 -Imagem cromatográfica de amostras de aflatoxina das sementes tratadas com o extrato de pimenta-do-reino.....	45
Figura 4.2 - Representação gráfica da porcentagem de <i>A. flavus</i> para as diferentes doses de irradiação gama e tempo de armazenamento.....	69
Figura 4.3 - Representação gráfica da porcentagem de <i>A. niger</i> para as diferentes doses de irradiação gama e tempo de armazenamento.....	70
Figura 4.4 - Representação gráfica da porcentagem de <i>Rhisopus</i> para as diferentes doses de irradiação gama e tempo de armazenamento.....	70
Figura 4.5 - Representação gráfica da porcentagem de <i>Penicillum</i> para as diferentes doses de irradiação gama e tempo de armazenamento.....	71
Figura 4.6 - Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes irradiadas e armazenadas em embalagem de PE1, por 60 dias.....	74
Figura 4.7 - Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes irradiadas e armazenadas em embalagem de polietileno trançado, por 60 dias.....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Estimativa de produção de amendoim no Brasil para 2005/2006 e 2006/2007.....	5
Tabela 2.2 - Descritores da BRS Havana.....	6
Tabela 2.3 - Descritores da variedade BR1.....	7
Tabela 4.1 - Valores médios do teor de umidade (%) das sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 9 meses em embalagem de PET e polietileno trançado.....	37
Tabela 4.2 - Análise de variância da incidência de fungos nas sementes de amendoim variedade BRS Havana tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado, durante 9 meses.....	38
Tabela 4.3 - Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação D x E em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 9 meses em embalagem de PET e polietileno trançado.....	39
Tabela 4.4 - Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação E x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 9 meses em embalagem de PET e polietileno trançado.....	41
Tabela 4.5 - Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação T x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 9 meses em embalagem de PET e polietileno trançado.....	43
Tabela 4.6 - Análise de variância da quantidade de Aflatoxina ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de sementes de amendoim tratadas com extratos de nim nas concentrações de 70 e 100 mL em ambiente não controlado, durante 30 dias.....	46

Tabela 4.7 - Quantidade de Aflatoxina ($\mu\text{g kg}^{-1}$) para a interação C x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> , tratados com extratos vegetais em diferentes doses armazenadas por 90 dias, em embalagem de PET e polietileno trançado.....	47
Tabela 4.8 - Resultados de recuperação de amostras de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>Aspergillus flavus</i> e contaminadas artificialmente com aflatoxina B ₁	49
Tabela 4.9 - Resultados de recuperação de amostras de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>Aspergillus flavus</i> , contaminadas artificialmente com aflatoxina B ₁ tratadas com extrato de nim e armazenados em embalagem PET.....	49
Tabela 4.10 - Valores médios do teor de umidade (%) das sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias, em embalagem de PET e polietileno trançado.....	50
Tabela 4.11 - Análise de variância da incidência de fungos nas sementes de amendoim variedade BR1, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado, durante 90 dias.....	52
Tabela 4.12 - Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação D x E em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado.....	53
Tabela 4.13 - Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação E x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado.....	55
Tabela 4.14 - Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação T x E em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado.....	56

Tabela 4.15 - Análise de variância da germinação de sementes de amendoim variedade BR1 tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado, durante 90 dias.....	58
Tabela 4.16 - Valores médio da germinação (%) para a interação E x D em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado.....	59
Tabela 4.17 - Valores médio da germinação (%) para a interação E x T em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado.....	60
Tabela 4.18 - Valores médio da germinação (%) para a interação D x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado.....	62
Tabela 4.19 - Valores médio da germinação (%) para a interação E x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado	63
Tabela 4.20 - Valores médios da germinação (%) para a interação D x T em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com <i>A. flavus</i> tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado.....	64
Tabela 4.21 - Valores médios do teor de umidade (%) das sementes de amendoim irradiadas com ⁶⁰ Co em diferentes doses e armazenadas por 60 dias em embalagem de PET e polietileno trançado.....	66
Tabela 4.22 - Análise de variância da incidência de fungos nas sementes de amendoim variedade BR1 irradiadas com ⁶⁰ Co e armazenadas em ambiente não controlado durante 60 dias em embalagem de PET e polietileno trançado.....	67
Tabela 4.23 - Valores médio da incidência (%) de fungos para a interação D x E em sementes de amendoim irradiadas com ⁶⁰ Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias.....	67

Tabela 4.24 - Análise de variância da germinação de sementes de amendoim variedade BR1 irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias.....	73
Tabela 4.25 - Valores médio da germinação (%) para a interação D x E em sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias.....	73
Tabela 4.26 - Valores médio da germinação (%) para a interação D x T em sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias.....	76



Comportamento da micoflora e da aflatoxina em sementes de amendoim tratadas com extratos vegetais e irradiação gama

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de se estudar a contaminação do amendoim por fungos e micotoxinas ao longo do armazenamento, em sementes de amendoim tratadas com diferentes doses de extrato de nim e pimenta-do-reino, em diferentes embalagens e avaliar o efeito da irradiação gama (^{60}Co). Utilizaram-se sementes de amendoim das cultivares BRS Havana e BR1. Para início dos trabalhos as cultivares foram caracterizadas quanto à micoflora, aflatoxina, teor de umidade e germinação. Os trabalhos foram realizados em três etapas: **na primeira etapa**, foram estudados os teor de umidade, micoflora e aflatoxina, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, com os fatores: extrato de pimenta-do-reino e de nim, doses dos extratos, procedimento (sementes inoculadas e não inoculadas com o fungo) e tempo de armazenamento; **na segunda etapa**, a cultivar BR1 foi submetida aos mesmos tratamentos aplicadas à cultivar BRS Havana, avaliados a micoflora e a germinação e determinando o teor de umidade durante o armazenamento; **na terceira etapa**, as sementes foram submetidas a irradiação gama (^{60}Co) onde se estudou o efeito de 8 doses de irradiação na micoflora, germinação das sementes armazenadas em embalagem de PET e polietileno trançado, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, com os fatores: doses em kGy, embalagens e tempo de armazenamento. Concluiu-se que os fungos detectados nas amostras de amendoim vindo do campo e durante a armazenagem das sementes não inoculadas e inoculadas, foram: *A. flavus*, *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium*, com predominância do *Aspergillus flavus*. A presença de aflatoxina acima do permitido pela legislação brasileira para comercialização do amendoim, deu-se com as sementes inoculadas com *A. flavus* tratadas com extrato de nim na dose de 70 mL; a dose de 0,5 kGy foi efetiva na germinação das sementes de amendoim, sendo superior à testemunha, no período de 30 e 60 dias.

Palavras-chave: *Aspergillus flavus*, micotoxinas, armazenamento



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



Behavior of the mycoflora and aflatoxin in groundnut seeds treated with plant extracts and gamma irradiation

ABSTRACT

This work was carried out in order to study the contamination of peanuts by fungi and mycotoxins throughout the store, in peanut seed treated with different concentrations of extract of neem and pepper in different packages and evaluate the effect of gamma irradiation (^{60}Co). We used seeds of peanut of cultivars BRS Havana and BR1. To start work the cultivars were characterized as for the mycoflora, aflatoxin, moisture content and germination. The work was conducted in three steps: the first step, we studied the moisture content, mycoflora and aflatoxin, using a randomized design with the factors: extract of pepper and neem, concentrations of the extracts, procedure (not inoculated and inoculated seeds with the fungus) and storage time; the second step, the BR1 cultivar was subjected to the same treatments applied to BRS Havana, evaluated the mycoflora and germination and determining the moisture content during storage; the third step, the seeds were subjected to gamma irradiation (^{60}Co) where studied the effect of 8 doses of irradiation on the mycoflora, germination of seeds stored in PET packaging and braided polyethylene, using a randomized design with the factors: dose kGy, packaging and storage time. It was concluded that the fungi found in samples of peanuts from the field and during storage of seeds inoculated and not inoculated were: *A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium Rhisopus*, with predominance of *Aspergillus flavus*. The presence of aflatoxin above as permitted by Brazilian legislation for marketing of peanuts, took place with the seed inoculated with *A. flavus* treated with neem extract at the concentration of 70 mL, the dose of 0.5 kGy was effective in the germination of seeds of peanut, being higher than the control, within 30 and 60 days.

Palavras-chave: *Aspergillus flavus*, mycotoxins, storage

1. INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea*) é uma cultura de expressão econômica no mundo e a quarta oleaginosa mais cultivada, devido aos valores nutricionais, utilizados para fins industriais e fabricação de diversos produtos. A semente pode ser consumida in natura ou cozida, frita e tostada, e é importante na elaboração de doces, balas e pastas. Uma grande parte da produção de amendoim no Brasil é utilizada como matéria-prima na fabricação de óleo. No Nordeste Brasileiro é relevante sua significância socioeconômica por ser uma alternativa viável para a agricultora familiar uma vez que contribui para a diversificação com outras culturas e para a autosustentabilidade da propriedade agrícola (Santos et al., 2005).

A produção brasileira de 142 mil t em 1995 chegou a 250 mil t em 2006/07, enquanto a produtividade passou de 1740 kg ha⁻¹ em 1994/96 para 2300 kg ha⁻¹ em 2006/07 (CONAB, 2008).

A contaminação do amendoim por fungos pode ocorrer quando da formação das sementes ou quando da realização das tradicionais práticas de colheita, secagem, beneficiamento e armazenamento (Rosseto et al., 2003) e por ser colhido nas mais adversas condições climáticas aumentando, assim, a probabilidade de desenvolvimento de bactérias e fungos e de produção de aflatoxina (Fonseca, 2005).

A aflatoxina é um metabólito secundário produzido por fungos, em que as espécies de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* são descritas como as mais agressivas produtoras de toxina mas se sabe que outros representantes do gênero como *A. nomius* também produzem aflatoxina (fungos toxicogênicos). Esses metabólitos secundários são produzidos por fungos ainda no campo ou durante o armazenamento (dependendo das condições do ambiente ou do substrato), sendo nocivas à saúde humana e animal (Dhingra & Coelho Neto, 1998). Por se tratar de um país de clima predominantemente tropical, o Brasil apresenta todas as condições que levam à contaminação dos alimentos por aflatoxina, o que tem sido observado com frequência e em altos níveis, em amendoim (sementes e processados).

Associadas aos alimentos, como o amendoim e seus derivados, as micotoxinas prejudicam a sua qualidade, acarretando, perdas econômicas, como a rejeição dos mesmos pelo mercado, morte de animais, por consumirem ração contaminada e da contaminação do homem ao consumi-lo in natura ou processado; contudo, faltam informações técnicas envolvendo o acompanhamento do amendoim durante o

armazenamento, para só então se poder avaliar, periodicamente, a frequência da contaminação fúngica, o monitoramento de produtos comercializados pela vigilância sanitária e trabalhos de levantamento de ocorrência, que constituem importantes meios para se controlar, minimizar ou eliminar a presença de aflatoxina na alimentação humana e animal; no entanto, é difícil detectar e quantificar o nível de contaminação de um lote de sementes por aflatoxina devido à heterogeneidade de distribuição no lote, ou seja, este, ao ser amostrado e dependendo dos níveis de contaminação, poderá apresentar ou não contaminação.

O amendoim armazenado sofre danos causados por temperatura, umidade, ataque de roedores, insetos e micro-organismos, sendo os fungos os principais causadores de grandes perdas durante o armazenamento.

O processo de irradiação de grãos e sementes é uma alternativa eficaz para a prevenção e controle da microbiota natural ou patogênica. A técnica de irradiação ionizante é um processo físico que surge como prática promissora e está sendo utilizada com o objetivo de aumentar a vida de prateleira e aprimorar a segurança dos alimentos pela desinfecção de grãos e sementes, de agentes inibidores de brotamento (germinação), destruição de parasitas em carne vermelha e retardo na maturação de frutas e vegetais, entre outros.

Algumas investigações descritas na literatura mundial destacam a eficiência da irradiação gama, em diferentes doses, na destruição de espécies fúngicas de *Aspergillus* e *Penicillium* em diferentes alimentos (Prado, 2005; Prado et al. 2006; Zenão, 2007).

O estudo dos fatores que afetam a eficiência da radiação é importante visto que facilita a obtenção de sementes isentas de contaminação por micro-organismos, em especial fungos, que contribuem para a deterioração das sementes ao longo de sua vida pós-colheita, sendo de fundamental importância o seu estudo para garantir a viabilidade nos programas de melhoramento e na comercialização das mesmas.

Diante dos fatos relatados objetivou-se, com este trabalho, estudar a contaminação do amendoim por fungos e por micotoxinas, especialmente aflatoxina, ao longo do armazenamento e, especificamente:

- 1) quantificar e identificar os fungos durante o armazenamento das sementes de amendoim cultivar BRS Havana e BR1 tratadas com extrato de nim e pimenta-do-reino, acondicionadas em embalagens de PET e polietileno trançado;

- 2) definir as doses dos extratos (0; 10; 40; 70 e 100 mL) de melhor controle, a micoflora e a aflatoxina no amendoim armazenado e estabelecer a melhor dose a ser empregada no controle da micoflora e da aflatoxina;
- 3) estudar o efeito dos extratos de nim e pimenta-do-reino sobre a viabilidade das sementes do amendoim armazenado em embalagem de PET e polietileno trançado;
- 4) estudar o efeito das diferentes doses da irradiação gama (^{60}Co) na germinação e percentagem de infecção fúngica de amendoim cultivar BR1.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Espécie estudada

- Amendoim (*Arachis hypogaea*)

O amendoim é uma planta dicotiledônea, da família *Leguminosae*, subfamília *Faboideae*, gênero *Arachis*. As espécies mais importantes do gênero são *A. hypogaea* L., *A. próstata* Benth e *A. nbanbiquarae* Hochoe (Banks, 1976).

Originado da América é utilizado, há bastante tempo, como planta domesticada, por civilizações indígenas sul-americanas. As espécies do gênero *Arachis* ocorrem no continente americano, principalmente no Brasil, Paraguai, Argentina, Bolívia e Uruguai (Hammons, 1970). De acordo com Nogueira & Távora (2005), a planta do amendoim é herbácea, ereta ou prostrada, anual, com ciclo de 90 a 160 dias, atingindo altura da haste principal entre 50 e 60 cm. Na base do ovário se desenvolve uma região meristemática, parecida com uma haste, denominada ginóforo. Tal estrutura é dotada de geotropismo positivo, forçando o ovário para o interior do solo onde a vagem é desenvolvida. As sementes do amendoim se apresentam com formas elípticas, arredondadas ou ovaladas, possuindo uma coloração que vai do vermelho ao roxo, creme ou marrom avermelhado (Araújo, 1986).

- Produtividade no Brasil

O amendoim é a quarta oleaginosa mais cultivada no mundo, ocupando cerca de 22 milhões de hectares. Os principais produtores são China, Índia, África e Estados Unidos (FREITAS et al., 2005), perdendo apenas para a soja (56,8% do total da safra mundial), algodão (11,3%) e colza (11,1%) (Santos et al., 2005).

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 nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre. A semente é constituída de 22 a 33% de proteínas, 43 a 54% de materiais graxos, 10 a 16% de carboidratos, 3 a 4% de fibras, 1 a 3 de minerais, além de vitaminas B1, B2, niacina e E. O óleo de amendoim também possui grande quantidade de proteínas, variando de 45 a 50% (Moretto & Fett, 1998).

No Brasil, o estado de São Paulo é considerado o maior produtor (Tabela 2.1). A produção ocorre na região Norte-Nordeste, nos municípios de Ribeirão Preto, Jaboticabal, Sertãozinho e Dumont e na região Sul-Sudoeste, nos municípios de Marília, Tupã, Lins e Pompéia. A produção do amendoim brasileiro, além de atender ao mercado interno, também é movida pela oportunidade de exportação do grão, apresentando uma exigência cada vez maior quanto à qualidade do produto (IAC, 2003).

Tabela 1. Estimativa de produção de amendoim no Brasil para 2005/2006 e 2006/2007

Região/UF	Área (mil ha)			Produtividade (kg ha ⁻¹)			Produção (mil t)		
	Safra 05/06	Safra 06/07	VAR. %	Safra 05/06	Safra 06/07	VAR. %	Safra 05/06	Safra 06/07	VAR. %
CENTRO-OESTE	2,90	2,70	7,90	2,28	2,35	3,50	6,60	6,30	4,70
MS	1,90	0,60	70,00	2,45	2,00	18,40	4,70	1,10	75,50
GO	1,00	2,10	110,00	1,94	2,45	26,20	1,90	5,10	164,90
SUDESTE	69,20	62,40	9,90	2,71	2,51	7,50	187,40	156,20	16,70
MG	2,50	3,00	20,00	1,60	2,00	25,00	4,00	6,00	50,00
SP	66,70	59,40	11,00	2,75	2,53	8,00	183,40	150,20	18,10
SUL	9,70	10,40	7,20	1,58	1,87	18,10	15,30	19,40	26,60
PR	5,10	5,80	13,70	1,73	2,16	24,70	8,80	12,50	41,80
RS	4,60	4,60	-	1,42	1,50	6,00	6,50	6,90	6,00
CENTRO-SUL	81,80	75,40	7,80	2,56	2,41	5,80	209,40	181,90	13,10
BRASIL	81,80	75,40	7,80	2,56	2,41	5,80	209,40	181,90	13,10

Fonte: CONAB (2008)

O consumo mundial é de aproximadamente 8 milhões de toneladas de grãos de amendoim na forma in natura ou industrializada e de 15 a 18 milhões esmagados para fabricação de óleo comestível (Macedo, 2004).

O amendoim é comercializado imediatamente após a colheita; entretanto, quando há interesse na conservação o armazenamento pode ser feito em casca ou em sementes, utilizando-se sacos de nylon, papel multifoliado ou polietileno trançado. O armazenamento em casca é mais recomendado quando se deseja guardar a semente para o próximo plantio (EMBRAPA, 2004), enquanto Macedo (2004) recomenda o saco de aniagem quando o período é de 6 a 8 meses.

- A cultivar BRS Havana

Santos et al. (2005) tratam de uma demanda crescente por produtos de amendoim para atender ao mercado de alimentos, especialmente confeitaria e salgados. Para isto, a Embrapa Algodão desenvolveu a BRS Havana, uma cultivar de porte ereto, película clara e baixo teor de óleo, recomendada para produtores que vivem do agricultura familiar, nas regiões de Zona da Mata, Agreste e Sertão nordestino. A BRS Havana foi obtida de vários ciclos de seleção, exercidos no acesso CNPA 75 AM (Película Havana), originários de São Paulo e cedidos pelo Instituto Agrônômico (IAC) no início da década de 80, cujos descritores são apresentados na Tabela 2.2 (Santos et al., 2006).

Tabela 2.2. Descritores da BRS Havana

Características	Valor
Ciclo (Dias Após a Emergência – DAE)	90
Início da floração (DAE)	25
Altura da haste principal (cm)	34 – 40
Cor das hastes	Verde-aroxeada
Cor dos ginóforos	Arroxeadada
Cor da semente	Bege
Forma da semente	Redonda
Tamanho da semente	Médio
Bico, constrição e reticulação da vagem	Leve
Número 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: Queiroz (2006)

- A cultivar BR 1

A variedade BR1 destaca-se por apresentar resistência à seca e alta precocidade, sendo um dos fatores que influem decisivamente no sucesso da cultura. Possui sementes de coloração avermelhada, sendo indicada para o mercado de consumo in natura e para a indústria de alimentos (Santos et al., 2005). Seus descritores definidos estão na Tabela 2.3.

Tabela 2.3. Descritores da variedade BR1

Características	Valor
Ciclo (dias após a emergência - DAE)	89
Início da floração (DAE)	22
Rendimento em casca (kg/ha)	1700
Número 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 ⁻¹)	1250
Teor de óleo (%)	45
Teor de proteína (%)	38
Teor de carboidrato (%)	6,17
Teor de fibras (%)	3,83
Teor de cinzas (%)	2,67

Fonte: EMBRAPA (2004)

2.2. Micoflora em sementes armazenadas

Em geral, os alimentos apresentam uma microbiota natural extremamente variável, localizada principalmente na região superficial. Assim, os grãos, por exemplo, como amendoim, sorgo, milho e soja, são expostos desde o campo a uma variedade de micro-organismos provenientes de insetos, poeira, água, plantas doentes e fertilizantes. Seus esporos ou fragmentos de micélio darão início à contaminação e do desenvolvimento de fungos na planta e em sementes. A quantidade e os tipos desses

micro-organismos dependem de fatores como o clima, tipo de solo e resistência dos mesmos (Nakai, 2006).

/Os fungos são os principais componentes da microflora presente nos grãos armazenados e constitui a principal causa das deteriorações e perdas constatadas durante o armazenamento (Puzzi, 2000). Estes invadem os grãos em diferentes fases que caracterizam a contaminação por micotoxinas: antes da colheita, durante a colheita, na secagem e no armazenamento ou em todas essas etapas. Os efeitos da invasão fúngica implicam em significativa perda de qualidade do produto como, por exemplo, de germinação, descoloração, odor, aquecimento da massa, crescimento fúngico e produção de micotoxinas (Athié et al., 1998)./

/ Os fungos que atacam os grãos e sementes são, tradicionalmente, divididos em dois grupos: de campo e de armazenamento. Os fungos de campo atacam as sementes ainda no campo requerendo, para o seu crescimento, uma elevada umidade relativa do ar (90-95%) e altos teores de água nos grãos (20 a 21%). Os fungos de armazenamento, por sua vez, estão presentes nas sementes recém-colhidas, geralmente em porcentagens muito baixas. São capazes de sobreviver em ambiente com teores de umidade mais baixos, entre 13 e 18%, proliferando em sucessão aos fungos de campo e causando a deterioração das sementes (Carvalho & Nakagawa, 2005)./

/Os fungos de campo ocorrem apenas na fase inicial do armazenamento, sendo comuns do gênero *Fusarium*, *Alternaria* e *Cladosporium*, sucedidos por fungos de armazenamento, que são os principais responsáveis pelos danos em grãos e sementes armazenados. Os fungos de armazenamento compreendem, sobretudo, os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Alguns autores incluem esses dois fungos intermediários, pois são fungos encontrados no campo durante o processo de cultivo da planta, na colheita e no armazenamento. Os principais fungos são *Aspergillus halophilicus*, *A. restrictus*, *A. glaucos*, *A. ochraceus*, *A. candidus*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp. Esses fungos são difundidos em quase todo o mundo e estão entre os mais abundantes organismos vivos da natureza, sendo responsáveis por contaminações quase que inevitáveis em grãos e sementes armazenados (Athié et al., 1998)./

A contaminação dos alimentos por fungos significa perdas econômicas consideráveis. Além disso, os fungos toxigênicos podem representar risco à saúde humana, seja a longo ou em curto prazo. A presença do fungo no alimento não implica, obrigatoriamente, em produção de micotoxina, assim como a toxina pode estar presente

no alimento, mesmo na ausência do fungo. Tanto para o crescimento do fungo quanto para a produção da toxina são necessárias condições especiais que favoreçam seu desenvolvimento e, por conseguinte, a produção da toxina (Pereira et al., 2002).

Todo micro-organismo, incluindo os fungos toxigênicos, possui uma atividade de água e temperatura máxima, mínima e ótima para o crescimento, valores esses normalmente diferentes para produção de toxina. Por exemplo, *A. flavus* requer uma atividade de água mínima entre 0,78 e 0,80 para o crescimento e 0,83 a 0,87 para a produção de toxina, podendo crescer entre 6 a 45 °C, sendo 30 °C a temperatura ótima para produção de aflatoxina (Bullerman et al., 1984). PROCURAR

Almeida et al. (2007), avaliando a produção de aflatoxina em sementes de amendoim armazenadas em condições de temperatura ambiente e câmara seca, em embalagem de polietileno trançado e papel multifoliado, concluíram que as condições de armazenamento foram desfavoráveis à produção de aflatoxina do tipo B₁ e que as sementes contaminadas no campo permaneceram durante o armazenamento e as não contaminadas continuaram isentas de aflatoxina.

Em um estudo de análise sanitária em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), armazenadas em algumas áreas do estado da Paraíba (Solânea, Remígio, Lagoa Seca, Esperança e Campina Grande) foram detectados *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus stolonifer*, *Sclerotium* sp e *Phoma* sp, sendo que *Rhizopus stolonifer*, *Rhizoctonia solani* e *Aspergillus flavus* sendo observados em todas as localidades comparadas enquanto *Phoma* sp só ocorreu em Solânea; já 71,66% das sementes analisadas apresentaram contaminação, tendo Campina Grande e Lagoa Seca obtido os mais altos índices de contaminação e Solânea o menor (Nóbrega & Suassuna, 2004).

Farias (2000), estudando a contaminação endógena por *Aspergillus* spp. em milho no estado do Paraná, concluiu que os grãos aparentemente sadios podem apresentar contaminação por fungos com potencial toxígeno.

Nakai (2006), avaliando mensalmente, durante um ano, a microbiota fúngica e a ocorrência de aflatoxina em amostras de amendoim armazenado, provenientes de Tupã, Estado de São Paulo, Brasil, observou uma frequência elevada de *Fusarium* spp. que ocorreu, provavelmente, pelo fato das vagens do amendoim serem subterrâneas e estarem diretamente expostas ao solo, local frequentemente contaminado pelo fungo e, de modo geral, uma ligeira diminuição de *Fusarium* spp. e um ligeiro aumento de *Aspergillus* spp., ao longo do período do armazenamento o que pode ser atribuído ao

fato do *Aspergillus* spp. ser um fungo de armazenamento. Dentro do gênero *Aspergillus*, somente *A. flavus* e *A. niger* foram isolados durante a investigação, embora a frequência do *A. flavus* tenha sido maior nos grãos que nas cascas.

2.3. *Aspergillus* sp.

O gênero *Aspergillus* pertence à classe dos *Hyphomicetos* que se caracteriza pela formação de conidióforos, ou seja, hifas especializadas e produtoras de conídios com forma e arquitetura variáveis. São fungos caracterizados pelo desenvolvimento de colônias coloridas e brilhantes (Nakai, 2006).

Aspergillus flavus e *A. parasiticus* compreendem duas das espécies mais importante do gênero. Apresentam colônias caracteristicamente verdes e amarelas, tornando-se acinzentada com a idade. O *Aspergillus flavus* está presente em todos os alimentos; sua incidência é bastante acentuada no armazenamento, em especial de cereais, amendoim e mandioca, enquanto o desenvolvimento é rápido, atingindo níveis altíssimos em ambientes favoráveis com temperatura e umidade ideais (Pereira et al., 2002).

2.4. Micotoxinas

A presença de micotoxinas em alimentos é um sério risco para a saúde pública e para a qualidade dos alimentos. Por muito tempo os fungos foram conhecidos pela capacidade de produzir metabólitos tóxicos, porém seus efeitos foram largamente ignorados. Esta situação foi alterada drasticamente após 1960, com a doença X dos perus, quando a atenção mundial se concentrou sobre as micotoxinas.

As micotoxinas são metabólitos tóxicos secundários, produzidos por fungos que contaminam as culturas no campo, no transporte e durante o armazenamento. Naturalmente, podem se desenvolver nos produtos alimentícios que são destinados diretamente ao consumo animal ou humano, sendo capazes de originar uma ampla variedade de efeitos tóxicos em animais vertebrados, afetando sua saúde, incluído o homem (Prado et al., 1995).

A doença ou síndrome que resulta da ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas se denomina micotoxicose, podendo causar, ao organismo humano ou animal, diversos danos, prejudicando o metabolismo do organismo, causando o

desenvolvimento de tumores podendo, inclusive, ocasionar a morte, em alguns casos (Scussel, 1998). As micotoxicoses são caracterizadas por síndromes difusas mas com predominância de lesões em determinados órgãos, como fígado, rins e sistema nervoso central. Compostos de difícil diagnóstico, na maioria das vezes são confundidas com outras doenças. Assim, o diagnóstico deve estar fundamentado na detecção e quantificação da toxina no alimento (Kubena et al., 1995). A partir de dados de consumo de alimentos contaminados e dos respectivos níveis médios de ocorrência da toxina, o grau de exposição é analisado em termos de ingestão diária (IDP) por unidade de peso corpóreo e, em geral é calculado em $\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corpóreo (p.c.) /dia. As estimativas de IDP comparam o valor com a ingestão diária tolerável (IDT), avaliando assim, o risco de ocorrência na saúde da população (Nakai, 2006).

A identificação das espécies de fungos contaminantes é importante sinalizador da presença de micotoxinas nos substratos e pode ser utilizado como método preventivo (Farias et al., 2000); no entanto, Ranjan & Sinhá (1991) afirmam que o isolamento e a identificação desses fungos nem sempre estão ligados à detecção de micotoxinas no produto analisado, considerando que existem cepas dentro de uma mesma espécie que não possuem a capacidade de produção de metabólitos tóxicos e cuja ausência de sinais visíveis do crescimento fúngico não pode ser totalmente interpretada como ausência de toxinas, já que estas são capazes de permanecer em um alimento, mesmo depois que um fungo produtor tenha sido eliminado.

/Segundo Sabino et al. (1999), existe atualmente, cerca de 300 micotoxinas isoladas mas as toxinas mais comumente encontradas em alimentos e que, comprovadamente, têm propriedades tóxicas acentuadas, estando mais largamente distribuídas nos alimentos, causando danos ao consumidor e que devem ser estudadas, são: Aflatoxina, Zearalenona, Ochratoxina e Fumosina. / *RECORRAR*

Gonçalves et al. (2001), fazendo um levantamento técnico das análises de micotoxinas no instituto biológico de 1989 a 1999, mostraram que das 728 amostras analisadas 131 (18%) apresentaram algum nível de contaminação, 338 amostras foram de rações para animais de criação e domésticos, equivalendo a 46% das análises, das quais 17% indicaram contaminação por uma ou mais micotoxinas em teores variáveis, com alguns destes valores fora dos limites estabelecidos pela legislação. A aflatoxina foi a toxina mais encontrada nas amostras contaminadas e, em muitos casos, os teores acima do permitido pela legislação.

2.5. Aflatoxina

As aflatoxinas são substâncias produzidas, sobretudo, pelo metabolismo dos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* que apresentam comportamento ecológico e biológico bem distintos durante o seu desenvolvimento em um substrato favorável à sua produção. Formam um grupo exclusivo de compostos heterocíclicos altamente oxigenados. As principais formas (Figura 2.1) de aflatoxina são: B₁, B₂, G₁, G₂; já os tipos M₁ e M₂ são produtos do metabolismo da aflatoxina B₁, B₂. A diferença estrutural entre elas é responsável pela altíssima diferença na toxidez de cada uma, sendo a aflatoxina B₁ a mais tóxica e a mais comum de todas (Dhingra & Coelho Neto, 1998).

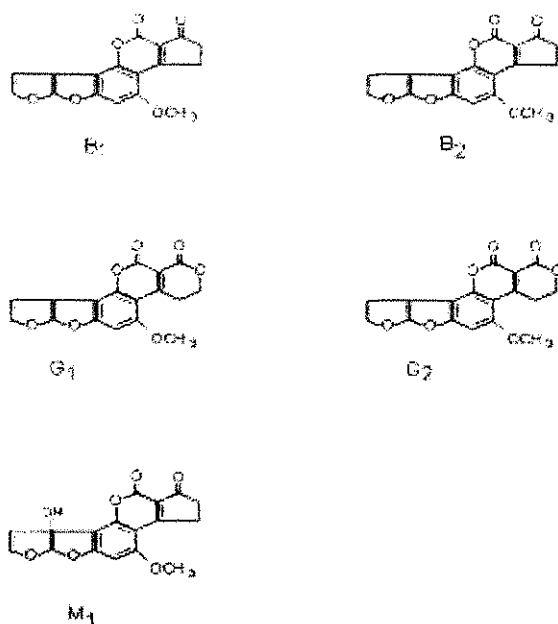


Figura 2.1. Estrutura química das aflatoxinas (Fonte: Fonseca, 2005)

Formada pelo “A” do gênero *Aspergillus*, “FLA” da espécie *flavus* e pelo termo “TOXINA”, que significa veneno, tem-se a origem da palavra AFLATOXINA; essas micotoxinas emitem fluorescência sob a luz ultravioleta e, com base nesta propriedade, as aflatoxinas do grupo B são assim denominadas por apresentarem cor azul “Blue”, enquanto as do tipo G se apresentam verde “Green” (Ellis, 1991).

As aflatoxinas foram descobertas em 1960 ao provocarem, em perus, na Inglaterra, um surto com alta letalidade conhecida como “turkey X disease”; milhares de aves morreram após consumirem torta de amendoim, proveniente do Brasil, que foi adicionada à ração (Sargeant et al., 1961).

A exposição humana em relação à aflatoxina pode ocorrer através da ingestão de alimentos diretamente contaminados, principalmente pela aflatoxina do tipo B₁ ou, também, de outros produtos, como leite e carne, originários de animais que consumiram rações contaminadas (Moss, 1989). Os principais produtos alimentícios susceptíveis ao desenvolvimento desse fungo incluem amendoim (cru, torrado, creme, em doce e confeitado e grãos e sementes), milho (pipoca, canjica e grãos e sementes), trigo, arroz, castanha-do-pará, nozes, avelã, castanha de caju, amêndoas, frutas secas, temperos, sementes de algodão, óleos vegetais, e cacau, entre outros que, normalmente, são utilizados na composição de alimentos e rações (Caldas et al., 2002).

O amendoim é um produto com alto risco de contaminação pelas aflatoxinas devido, muitas vezes, à demora no período de secagem após o arranquio e a ocorrência de chuvas, facilitando o crescimento fúngico. Dentre as condições favoráveis à produção de aflatoxina em sementes de amendoim se destaca a elevada temperatura e o estresse hídrico prolongado (Fonseca, 2006). / JM VOA UN TE

No Brasil, os produtos comercializados à base de amendoim são regulamentados pela RDC n° 274, da ANVISA, de 15 de outubro de 2002, cuja publicação no Diário Oficial da União, de 16 de outubro de 2002, determina que o somatório das aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂, em amendoim com casca, descascado, cru ou tostado e produtos na forma de pasta e manteiga não exceda a taxa de 20 µg kg⁻¹ (MAPA, 2006).

Maciel et al. (1996), em um trabalho realizado sobre a ocorrência de aflatoxinas e fungos aflatoxigênicos em amostras de amendoim na cidade de Maringá, no Paraná, demonstraram que 97,2% das amostras analisadas estavam contaminadas pelo fungo *Aspergillus flavus* e a avaliação deste grupo mostrou que 83% destes fungos tinham capacidade para produzir a aflatoxina B₁.

Kwiatkows & Alves (2007) encontraram alta incidência de contaminação de aflatoxina em 60 amostras de amendoim e derivados, castanha-do-pará, milho de pipoca e milho em grão, correspondendo a 26,4% das 227 amostras analisadas, em que o milho em grão tem maior incidência de contaminação (60%), seguido da paçoca e doces de amendoim (51,2%), amendoim cru (49,1%), amendoim torrado e confeitado (40%), castanha-do-pará (33,3%) e milho de pipoca (13,6%).

Sabino et al. (1999), estudando a ocorrência de aflatoxina em 137 amostras de amendoim e produtos contendo amendoim no estado de São Paulo, concluíram que 62 amostras foram positivas para aflatoxinas e 37 amostras apresentaram valores de

aflatoxinas B1 + G1 acima do limite máximo da legislação brasileira. A concentração de aflatoxinas nas amostras de amendoim cru variou de 5,0 a 356,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 27,1% delas acima do limite. Quanto à contaminação por aflatoxinas nas amostras de doces de amendoim, 32,8% estavam acima do limite e as concentrações variaram de 6,0 a 536,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$. A contaminação nos amendoins salgados foi menos frequente, cerca de 10% das amostras e os níveis de toxina geralmente abaixo de 10,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$, porém uma das amostras com cobertura (amendoim japonês) apresentou 536,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Farias (2000), realizando estudo em três municípios do Paraná (Andirá, Apucarana e Sarandi), obteve como resultado, uma porcentagem de grãos de milho contaminados pós-colheita com *A. flavus* de 64% e de *A. parasiticus* de 7%, e a partir de 109 isolados de *A. flavus*, evidenciou-se que 73 isolados sintetizaram aflatoxinas B1 e B2, 20 sintetizaram B1, sete sintetizaram B1 e G1 três sintetizaram B1, B2 e G1 e em seis não foi detectada a síntese de aflatoxina.

Kawashima & Valente Soares (2006) quantificaram a presença de aflatoxinas em produtos derivados do milho (canjica, fubá, flocos, farinha e quirera), adquiridas no comércio de Recife, PE, e obtive em 5 amostras desses produtos contaminados, aflatoxina B1 com valores acima de 20,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Queiroz et al. (2006), avaliando a produção de aflatoxina em sementes de amendoim armazenadas em condições de temperatura ambiente e de câmara fria pelo método de cromatografia delgada, concluíram que a concentração mínima de detecção de aflatoxina B1 foi de 1,94 mg kg^{-1} e que as sementes de amendoim, armazenadas em condições naturais e em câmara fria, não se apresentaram contaminadas por aflatoxina durante o período estudado.

Prado et al. (2008), avaliando o grau de contaminação com aflatoxina B₁ em amostras de pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) e orégano (*Origanum vulgare* L.) comercializadas no estado de Minas Gerais e analisando alguns parâmetros de um método analítico, utilizando extração com etanol-água na detecção e quantificação da aflatoxina B1 por cromatografia em camada delgada, concluíram que a metodologia empregada apresentou boa performance analítica para determinação de aflatoxina B1 em pimenta e orégano e que em virtude da importância da exposição humana à aflatoxina B1 para a saúde pública e as condições climáticas do Brasil, que favorecem a produção de fungos e produção de micotoxinas, é necessário um monitoramento constante da qualidade dos alimentos oferecidos para os consumidores.

Amaral et al. (2006) pesquisando a ocorrência de aflatoxinas em produtos alimentícios à base de milho, comercializados em Maringá e Marialva, avaliando o risco à saúde pública pela exposição a essas micotoxinas e, ainda, comparando duas técnicas de quantificação de aflatoxina, ou seja, a cromatografia em camada delgada (CCD) e o ensaio imunoenzimático (ELISA) concluíram que a utilização do ELISA é adequada para uma determinação rápida, simples e com baixa utilização de solventes orgânicos de aflatoxinas em amostras de milho e derivados, desde que os resultados sejam sempre confirmados por outras técnicas alternativas, de modo a evitar resultados falso-positivos e/ou falso-negativos.

2.6. Determinação da aflatoxina

Vários métodos têm sido usados para análise de aflatoxinas mas a análise individual das micotoxinas é um trabalho difícil, pois são conhecidos mais de 300 compostos e é comum uma toxina estar presente em concentrações mínimas em uma matriz orgânica complexa. A maioria das micotoxinas é analisada por cromatografia em camada delgada (Amaral & Machinski Júnior, 2004).

- Cromatografia em camada delgada (CCD)

É a técnica de referência para a maioria dos laboratórios brasileiros devido à sua confiabilidade e não necessitar de equipamentos onerosos. A CCD permite separação eficaz dos compostos, o que torna este método muito útil na caracterização das aflatoxinas. Na CCD o índice de retenção (R_f) das micotoxinas varia conforme a mistura de solventes da fase móvel, sendo utilizado o sistema-solvente tolueno-acetato de etila-clorofórmio-ácido fórmico – 70:50:50:20. A quantificação das aflatoxinas pode ser realizada utilizando-se técnica visual sob luz UV ou a densitometria (Stroka & Anillam, 2000).

2.7. Extratos vegetais

A crescente preocupação da população pela qualidade de alimentos faz com que aumente o número de pesquisas envolvendo produtos naturais. Países como China, Egito, Índia e Grécia, são conhecedores, há séculos do uso de extratos de plantas como alternativa ao uso de antibióticos.

Os compostos químicos sintéticos ainda são o principal meio de controle de pragas. Apesar de sua contribuição para a produção agrícola, o uso intensivo favoreceu o surgimento de pragas mais resistentes, ou seja, pragas secundárias, sem que houvesse o controle dos problemas com pragas já existentes (Marques et al., 2004). Além disso, são altamente tóxicos e prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana (Arroteia et al., 2007).

Segundo Boff & Almeida (2005), a implicação benéfica das plantas está associada à constituição dos seus princípios ativos. A utilização de métodos naturais, como o uso de substâncias de origem vegetal para a proteção de grãos e sementes armazenados, constitui uma alternativa menos poluente e de baixa toxicidade para o homem e para os animais domésticos. Compostos de origem vegetal podem constituir-se em importantes agentes de controle devendo à fácil obtenção e utilização, pelo baixo custo, e por minimizarem os problemas apresentados pelos produtos químicos sintéticos

Os princípios ativos das plantas são moléculas de baixo peso molecular, oriundos do metabolismo secundário das plantas como, por exemplo, os óleos essenciais. Esses compostos são produzidos como mecanismo de defesa da planta contra fatores externos, como o estresse fisiológico, ambientais e proteção contra patógenos. São esses motivos que levam a composição dos constituintes variar com a espécie vegetal, origem e condição climática durante seu desenvolvimento. Outros fatores importantes são o método de extração e as condições e tempo de armazenamento (Barreto, 2007).

Vilela (2007), estudando o efeito do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre espécies produtoras de aflatoxinas, concluiu que foi bom o desempenho do óleo sobre o crescimento micelial dos fungos *A. flavus* e *A. parasiticus* confirmando sua eficiência como antifúngico nas doses mais elevadas.

Barreto et al. (2003), avaliando os efeitos dos extratos de agave de uma variedade nativa e do híbrido 11648 sobre o crescimento de fungos em sementes de

algodoeiro da variedade BRS 201, concluíram que o extrato controlou 47,20 e 39,53%, respectivamente, os fungos *Aspergillus* sp e *Fusarium* sp.

2.8. Armazenamento

Quando tecnicamente conduzido, o armazenamento dos grãos mantém a composição química dos produtos (carboidratos, proteínas, gorduras, fibras, minerais e vitaminas) no seu estado natural, além de controlar os fatores físicos como temperatura e umidade (Puzzi, 2000). O ponto-chave para prevenir a contaminação por aflatoxina durante o armazenamento, é evitar a reidratação dos grãos (Dhingra & Coelho Neto, 1998).

O local de armazenamento deve ser ventilado, seco, com boa cobertura, de preferência com paredes duplas e piso de concreto. Deve ter estruturas de ventilação, ser protegido de chuva e de insetos, pássaros e roedores, com flutuação mínima de temperatura. Os grãos devem ser distribuídos de maneira uniforme, favorecendo a dispersão do calor e umidade. Desta forma, há redução das áreas favoráveis à proliferação de insetos, que causam picos de aquecimento e umidade, favorecendo o crescimento do fungo que produz a aflatoxina. Umidade relativa do local menor que 70% e temperatura entre 0 e 10 °C propiciam ótimas condições de armazenamento. Recomenda-se medir a temperatura em intervalos fixos para monitorar a ocorrência de altas temperaturas, que indicam atividade microbiana ou de insetos (Fonseca, 2005).

2.9. Umidade

O teor de umidade ou a quantidade de água contida no grão é definido como a relação entre a massa de água livre contida no produto e sua massa (Silva, 2003). Os métodos de determinação da umidade são classificados em diretos (estufa, destilação e infravermelho) e indiretos (resistência elétrica, dielétricos, químicos e higrométricos) Carvalho (1994).

O teor de umidade do produto em qualquer fase do processo, seja na compra de matéria-prima, durante o processamento e na comercialização, é um parâmetro que necessita ser conhecido para as realizações dessas operações adequadamente (Fioreze, 2004). É um dos fatores que governam a conservação dos grãos e sementes armazenadas e de grande importância do ponto de vista comercial, pois pode alterar

substancialmente o valor do produto negociável. Portanto, sua determinação deve ser realizada em todas as fases compreendidas desde a colheita até a última etapa do armazenamento (Almeida et al., 2006).

De acordo com Silva (2003) o teor de umidade e a temperatura influenciam diretamente nos processos como colheita, armazenagem, germinação etc. Esses processos exigem determinado teor de umidade, cuja alteração trará prejuízos.

A umidade contida nos grãos e sementes estabelece uma umidade relativa ao seu redor, que pode favorecer o crescimento fúngico. Os fungos de armazenamento necessitam de um conteúdo de umidade em equilíbrio com a umidade relativa do ambiente, entre 65% e 90%. Nesta faixa, cada espécie fúngica tem o seu próprio limite de umidade relativa para se desenvolver, este limite de umidade necessário ao crescimento fúngico, abaixo do qual esses organismos não se desenvolvem, é denominado, por alguns pesquisadores, “umidade crítica” (Christensen & Kaufmann, 1965).

De acordo com observações feitas por Diener & Davis (1966), a produção máxima de aflatoxina, em grãos de cereal, ocorre em umidade de 25% a 30 °C. A umidade relativa mínima exigida é de 83 a 88%. Tais autores observaram, também, aumento na produção de aflatoxina com o acréscimo da umidade relativa para 99%.

2.10. Temperatura

Os grãos armazenados se deterioram mais depressa quando a temperatura da massa se eleva (Puzzi, 2000). A ação combinada da temperatura e do teor de umidade das sementes exerce efeito significativo sobre a manutenção da qualidade do produto. Estudos diversos têm mostrado que sementes com elevado teor de umidade podem ser armazenadas durante longos períodos, quando submetidas a baixa temperatura, enquanto sementes com baixo teor de umidade expostas às temperaturas de armazenagem elevadas, apresentam substancial perda de viabilidade (Jerônimo, 2004).

O desenvolvimento de insetos e fungos que contribuem para a redução da qualidade da semente está fortemente relacionado à ação dos fatores temperatura e teor de umidade da massa de sementes (Dhingra, 1985). As condições de alta umidade dos grãos levam ao desenvolvimento de fungos, resultando em aumento de temperatura e umidade, que são condições ideais para a propagação de insetos. Os fungos de armazenamento são mais sensíveis a mudanças de temperaturas e seu crescimento é

maior em temperaturas em torno de 25 a 30 °C, porém, o desenvolvimento é reduzido em temperaturas abaixo de 10 °C (Pereira et al., 2002).

A temperatura ótima para a produção de aflatoxina é influenciada pelo tipo de substrato. No amendoim a temperatura ótima para a produção de aflatoxina por *Aspergillus flavus* foi 25 °C, em período de incubação de 7 a 9 dias. Índices elevados de aflatoxina foram produzidos em amendoim a 25 e 30 °C, durante 7 e 15 dias de incubação, ocorrendo o mesmo no meio líquido. A produção de aflatoxina por *Aspergillus parasiticus* atingiu maior nível nas temperaturas de 20, 25 e 30 °C, no período de 5 a 21 dias. Os níveis mais elevados foram observados aos 25 e 30 °C, com 7 e 15 dias de incubação (Diener & Davis, 1966).

De acordo com o ICMSF (1996), a temperatura para a produção de aflatoxina é de 13 a 37 °C, tendo como ótimo entre 16 a 31 °C. Para o *Aspergillus parasiticus* a temperatura varia de 12 a 42 °C, tendo como mais favorável 32 °C, já a produção da aflatoxina ocorre entre 12 a 42 °C e a considerada ótima é de 25 °C.

2.11. Embalagem

O sucesso na conservação da umidade das sementes se deve, em grande parte, à eficiência do tipo da embalagem empregada durante o armazenamento. A escolha da embalagem depende das condições predominantes no local em que as sementes vão ser armazenadas. Na embalagem, o alimento é separado do ambiente externo com a finalidade de reduzir a taxa de transporte de oxigênio ou vapor de água (Almeida, 2003).

Para Almeida et al. (1997), o emprego de embalagens e/ou recipientes herméticos, é de fundamental importância para proteger sementes e grãos contra danos provocados pelas pragas de armazenamento sem a necessidade de um tratamento prévio.

Morais et al. (1997), ao estudar o armazenamento de amendoim dentro e fora do fruto acondicionado em três tipos de embalagem, em duas microrregiões do Estado da Paraíba, por 15 meses, comprovaram que as sementes fora do fruto são mais susceptíveis ao ataque de pragas que ocorrem com maior ou menor intensidade, conforme a embalagem empregada. Esses autores observaram que, ao longo do armazenamento, as embalagens impermeáveis apresentaram menos de 3% de sementes danificadas enquanto as embalagens semipermeáveis e permeáveis apresentaram 20 e 24%, respectivamente, de sementes danificadas por algum tipo de micro-organismo.

2.12. Germinação

A perda de germinação é um indicativo importante da perda de vigor, o que torna útil o uso do teste de vigor no monitoramento da qualidade de sementes durante a produção, processamento e armazenamento, pois a perda de vigor precede a perda de germinação (Custódio & Marcos Filho, 1997).

Segundo Almeida et al. (1997), é necessário que as sementes estejam maduras, viáveis, livres de dormência, patógenos e o ambiente externo deve ter água, temperatura, oxigênio e luz suficiente para que as sementes germinem.

A qualidade fisiológica das sementes, representada pela germinação e vigor, pode afetar o desempenho na regeneração das plantas. Sementes de alto vigor apresentam maior velocidade nos processos metabólicos propiciando emissão mais rápida e uniforme da raiz primária no processo de germinação, maiores taxas de crescimento e produzindo plântulas com maior tamanho inicial (Schuch et al. 2000).

Almeida et al. (1998), estudando sementes de amendoim oriundas de quatro Estados da região Nordeste, verificaram redução da germinação e do vigor para o aumento do tempo de armazenagem. O tempo afeta a maior parte da viabilidade da semente; logo, deve ser considerado importante variável para uma armazenagem segura.

Nogueira et al. (2005) afirmam que, em condições ideais o amendoim germina em torno de 5 dias, com velocidade atingindo níveis de máximos na temperatura de 32 a 34 °C enquanto em temperaturas mais baixas ocorre redução.

Almeida et al. (2007), avaliando a produção de aflatoxinas em sementes de amendoim armazenadas em condições de temperatura ambiente e câmara seca ao longo de 180 dias em embalagem de polietileno trançado e papel multifoliado, concluíram que as condições de câmara seca favoreceram a conservação da germinação, e independente da embalagem as sementes sem casca apresentaram menor germinação durante o armazenamento.

Rodrigues & Menezes (2002), avaliando a população fúngica e o poder germinativo das sementes de cinco cultivares de feijão (IPA-201, IPA-202, IPA-204, IPA-205 e IPA-206) adquiridas na empresa pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), oriundas dos municípios de Serra Talhada e Caruaru, evidenciaram a presença de 71 espécies fúngicas compreendidas em 23 gêneros, em que os mais frequentes foram *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, correspondendo a 81,44% do total de colônias

encontradas. Com relação à qualidade das sementes, as maiores incidências foram observadas nas sementes cultivadas em Serra Talhada, possivelmente pelo tempo de armazenamento. Os fungos afetaram a germinação principalmente nas cultivares IPA-201 e IPA-202 de Serra Talhada com percentuais de germinação correspondentes a 53,2 e 65,5%, respectivamente. A presença dos fungos foi observada nas sementes, causando necrose nos cotilédones, radícula e folhas primárias, originando plântulas anormais.

2.13. Espécies vegetais estudadas

- *Azadiracta indica*

Planta pertencente à família Meliaceae, subtropical, conhecida como nim, “Margosa tree” ou “Indian Lilac”, nativa das regiões áridas da Ásia e África, que se encontra distribuída também na Austrália e América (Sexana, 1989). A azadiractina, um tetranortriterpenóide isolado da semente de nim, constitui o mais importante princípio ativo, do ponto de vista entomológico. Esta substância tem efeito repelente e intoxicante. A azadiractina se concentra principalmente nos frutos, aumentando ao longo do desenvolvimento, sendo máxima no amadurecimento e durante o armazenamento, podendo sofrer variações de acordo com o modo de colheita, armazenamento, teores de umidade, presença de luz, temperatura e variações no pH. Extratos biologicamente ativos obtidos de folhas, frutos, sementes e do tronco de *Azadirachta indica*, são reconhecidos pelas múltiplas propriedades terapêuticas, inseticidas, nematicidas e fungicidas, Mossini & Kemmelmeier (2004).

Os compostos bioativos de nim são utilizados na forma de pós, extratos aquosos e/ou orgânicos (metanólico, etanólico, acetônico, clorofórmico, hexânico), óleos e pasta, além de frações parcialmente purificadas e formulações ricas em azadiractina (Sexana, 1989). O local de origem, a idade das sementes e o solvente utilizado na extração, podem ocasionar variações nos teores do princípio ativo e na sua atividade biológica (Schmutterer, 1987).

Testes envolvendo o uso de extratos de folhas em algumas culturas indicam inibição do crescimento vegetativo de *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Há relatos da ação de extratos aquosos de folhas na inibição, em vários graus, de certos patógenos foliares do arroz: *Pyricularia oryza*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia lunata*, *Aspergillus niger* e *Fusarium*

Moniliforme e *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* em amendoim. Outros relatos têm confirmado a atividade antifúngica dos extratos: efeitos fungitóxicos *in vitro*; efeito sobre fungos fitopatogênicos, dentre eles *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium verticillioides* e *Sclerotinia sclerotiorum*; atividade fungistática com inibição da produção de aflatoxina B1 em cultura submersa de *Aspergillus spp* aflatoxigênica; inibição da formação de aflatoxina em *Aspergillus parasiticu* sem níveis superiores a 90% com extrato de nim 50% (v v⁻¹) 49. Análises por cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta performance demonstram inibição da produção de patulina pelo fungo *Penicillium expansum* em concentrações de extrato aquoso 10%, superiores a 50 mg mL⁻¹, em meio de cultivo líquido 50 (Mossini & Kimmelmeier, 2004).

- *Piper nigrum*

Originária do sudeste asiático, a pimenta-do-reino, família Piperaceae, apresenta inflorescência em forma de espiga, chamada amentilho, e é composta de pequenas flores. Os frutos são globosos, pequenos e indeiscentes, apresentando cor verde-escura quando imaturos, adquirindo coloração vermelha quando maduros; é uma das mais conhecidas dentre as espécies da família Piperaceae devido ao seu valor comercial, econômico e à importância medicinal (Garcia et al., 2000). A semente da pimenta-do-reino contém uma resina à qual se deve o sabor picante, e um óleo essencial de cheiro muito ativo com alto teor de uma substância chamada piperina (Correa, 1984). A pimenta-do-reino é, também, extremamente importante como planta medicinal.

As investigações fitoquímicas realizadas ao longo das últimas décadas em *P. nigrum*, revelaram uma ampla variedade de metabólitos especiais presentes nesta espécie, os quais se distribuem em diferentes classes de compostos: flavanos, alcalóides, ligninas (Pissinate, 2006). Quando esses compostos são extraídos das plantas por processos específicos, como a destilação, originam líquidos de consistência semelhante ao óleo, dotados de aroma forte, insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Compostos secundários de plantas medicinais, como, por exemplo, os alcalóides, com origem biosintética, apresentam atividade antimicrobiana (Schwan-Estrada et al. 2000).

2.14. Irradiação

As pesquisas sobre a utilização de raios gama em alimentos para consumo em larga escala, tiveram início após a segunda Guerra Mundial, com patrocínio do exército dos Estados Unidos. Em 1980 um comitê formado pela Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) concluiu que a irradiação de qualquer alimento com uma dose total média de até 10 kGy, não apresenta riscos toxicológicos e não requer testes toxicológicos adicionais. Essas mesmas entidades liberaram após rigorosos estudos, o uso incondicional da irradiação de alimentos, sem limite de dose (Zanão, 2007).

A irradiação em alimentos com o objetivo de reduzir a microbiota natural ou patogênica e aumentar a vida de prateleira dos produtos, é uma das tecnologias que vêm crescendo em todo o mundo mas ainda pouco difundida no Brasil. Atualmente, especiarias, grãos, carnes, frutas e vegetais já são tratados por este processo em cerca de 44 países, com diferentes propósitos: (1) retardamento do amadurecimento de frutos; (2) desinfecção, com eliminação de insetos adultos, larvas e ovos e (3) prevenção do brotamento de vegetais. Devido ao aumento do comércio internacional de alimentos e das crescentes exigências dos regulamentos dos países consumidores, pesquisas através das quais se avalia a irradiação como processo capaz de melhorar a qualidade e aumentar a vida de prateleira dos alimentos, são fundamentais no domínio do conhecimento científico.

Prado et al. (2006), verificando o efeito da irradiação gama (^{60}Co) em diferentes níveis (0, 1, 5, 10, 20, 25 30 K Gy) na porcentagem de infecção fúngica de amendoim in natura, com e sem o processo de desinfecção dos grãos, em função do tempo de prateleira, concluíram que o amendoim em grão não irradiado e não desinfetado externamente, proporcionou aumento do grau de contaminação fúngica durante o período de armazenamento e que a irradiação gama (^{60}Co) na dose de 5 kGy é capaz de reduzir a porcentagem fúngica de amendoim em grão após 20, 60 e 180 dias a temperatura ambiente, quando comparada com a contaminação inicial e, ainda, que a irradiação gama (^{60}Co) na dose de 10 kGy ou superior é capaz de eliminar a contaminação fúngica (0%) de amendoim em grão, por 6 meses, em temperatura ambiente, independentemente do processo prévio de desinfecção.

Zanão (2007), verificando a viabilidade da radiação gama como método de conservação do arroz (*Oriza sativa* L.) e sua eficiência no controle do *Sitophilus oryzae*

L., concluiu que o uso da radiação gama não afetou o rendimento após o beneficiamento e as doses de 0,5 a 1,0 kGy foram efetivas no controle do inseto (*Sitophilus oryzae* L.) no arroz.

Prado (2005), avaliando o efeito da irradiação gama ^{60}Co em diferentes doses na microbiota fúngica natural e após a inoculação de cepa aflatoxigênica de *Aspergillus flavus*, bem como destruição de aflatoxina B_1 em amostras de amendoim, natural e artificialmente contaminadas, verificou que doses de irradiação gama (^{60}Co) até 10 kGy, não foram suficientes para destruir aflatoxina B_1 em amostras naturalmente contaminadas. Essas mesmas doses, entretanto, destruíram cerca de 20% da aflatoxina B_1 em amostras artificialmente contaminadas e que, doses de irradiação gama (^{60}Co) de 15, 20, 25 e 30 kGy destruíram a aflatoxina B_1 , em amostras naturalmente contaminadas, em percentual que variou de 49 a 72%.

Em estudo de viabilidade, Santos (2008), submeteu sementes de amendoim, variedade Havana, a várias doses de irradiação e, em seguida, analisou sua micoflora, concluído, então, que o tratamento com radiação gama afetou negativamente o vigor e a germinação das sementes de amendoim; as doses de 0,5, e 1,5 kGy resultaram em perda de germinação e vigor acima de 50%; a dose de 3 kGy inviabiliza a utilização das sementes para o plantio e doses acima de 12 kGy comprometem totalmente o vigor e a germinação das sementes.

Viccini et al. (1997) utilizaram doses de 0,15 e 0,30 kGy para irradiar sementes de milho com teor de umidade variando de 14 a 46,4%, e observar seu comportamento após semeadura em campo. Os autores concluíram que o pequeno número de plantas observado aos 10, 20 e 30 dias após a semeadura (DAS), não conseguiu sobreviver até os 60 DAS, evidenciando o efeito drástico dos tratamentos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de realização do experimento

O experimento foi realizado 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.

3.2. Obtenção da matéria-prima

Utilizaram-se sementes de amendoim das cultivares BRS Havana e BR1, ou seja, as da cultivar BRS Havana, utilizadas nos experimentos, foram adquiridas junto a um produtor que contempla um projeto de produção integrada com a Embrapa Algodão, no distrito Missão Nova, município de Missão Velha, CE, e as sementes da cultivar BR1 de campos de sementes da Embrapa Algodão, Campina Grande, PB.

Para início dos trabalhos as sementes da cultivar BRS Havana foram caracterizadas quanto à micoflora, aflatoxina e teor de umidade e as da cultivar BR1 quanto à micoflora, germinação e teor de umidade.

3.3. Determinação da micoflora e isolamento do *Aspergillus flavus*

De cada lote se analisou uma amostra de 40 sementes, pelo emprego de método de papel de filtro umedecido (Neergaard, 1979); desta forma, as sementes, em número de 10, foram distribuídas igualmente e espaçadas sobre uma camada constituída de três folhas sobrepostas de papel de filtro, umedecidas com água destilada esterilizada (ADE) e contidas em placa de Petri ($\varnothing = 9,5$ cm); após a distribuição das sementes as placas de Petri foram mantidas em ambiente de laboratório (não controlado). No oitavo dia de incubação as sementes foram observadas ao microscópio estereoscópico, para a identificação dos fungos considerando-se as características de suas colônias e avaliação de incidência (% de sementes afetadas).

Procedeu-se ao isolamento dos diferentes fungos que se desenvolveram sobre as sementes, retirando-se fragmentos micelianos (2 mm de diâmetro) das margens das colônias e os plantando em meio de cultura BDA (Batata, 200 g; Dextrose, 20 g; Agar-Ágar, 17 g e água destilada, 1000 mL) esterilizado em autoclave a 121 °C, por 30 min, contido em placas de Petri. A partir das colônias que se desenvolveram sem contaminação, retiraram-se fragmentos micelianos, plantando-os no centro de placas de Petri contendo o meio de cultura Czapek, que é utilizado como padrão para se observar as características culturais (forma, cor, produção de pigmento) dos fungos *Aspergillus flavus* e *Penicillium*.

As espécies fúngicas devidamente identificadas foram cultivadas em meio de cultura BDA contido em tubos de ensaio, para a produção dos inóculos utilizados nos experimentos.

3.4. Obtenção dos extratos

Os extratos vegetais utilizados para avaliação do potencial de inibição e/ou ação fungicida sobre o crescimento micelial de *Aspergillus*, foram selecionados a partir de espécies citadas na literatura como possuidores de princípios ativos importantes no controle de micoflora dos grãos e sementes armazenados.

a) Extrato de pimenta-do-reino (*Piper nigrum*)

Obteve-se o extrato a partir de sementes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) adquiridas em feira livre de Campina Grande, material foi triturado em moinho de facas, depois pesado em balança e em seguida umedecido com álcool etílico a 70% (v v⁻¹) e, finalmente, colocado em percolador (Figura 3.1) para extração, conforme metodologia descrita por Almeida (2003).

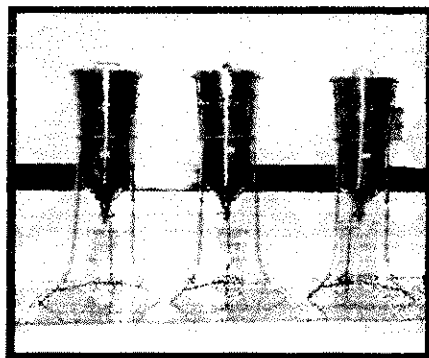


Figura 3.1. Percolador utilizado na obtenção dos extratos (Foto: Autor)

b) Extrato de nim (*Azadirachta indica*)

O extrato do nim produzido pelo Bioneem - Tecnologia Consultoria Indústria e Comércio Ltda foi adquirido em casa especializada no comércio de Campina Grande, PB.

3.5. Tratamento das sementes do amendoim

Foram utilizados, no tratamento dessas sementes, 10 mL dos extratos de pimenta-do-reino e de nim, nas doses de 0 (controle), 10, 40, 70 e 100 mL (extrato: água), para cada 300 g de sementes, em seguida, as sementes foram secadas a temperatura ambiente pelo tempo de 24 h, sobre folhas de papel jornal; depois, uma parte (metade), foi inoculada com o fungo *Aspergillus flavus*, utilizando-se 0,0632 g do inóculo. As amostras de 300 g de sementes inoculadas e não inoculadas, com teor de umidade de 6,94% bu para a cultivar BRS Havana e 8,12% bu para a cultivar BR1 foram acondicionadas em recipientes de PET e polietileno trançado onde a cultivar BRS Havana permaneceu armazenadas por 9 meses, e a BR1, 3 meses no LAPPA, em ambiente não controlado de temperatura e umidade relativa do ar. Igual quantidade de sementes foram armazenadas da mesma forma, sem receber o inóculo.

Primeiro Experimento

3.6. Realização das análises: cultivar BRS Havana

As sementes da cultivar BRS Havana acondicionadas em embalagens de PET e polietileno trançado, foram avaliadas trimestralmente quanto ao teor de umidade (%), micoflora (%) e aflatoxina ($\mu\text{g kg}^{-1}$).

3.6.1. Teor de umidade

Utilizou-se o método padrão de estufa a 105 ± 2 °C, com 3 subamostras de 20 g acondicionadas em recipientes metálicos, previamente secados, pesados e colocados em estufa pelo tempo de 24 h; após este período os recipientes foram retirados da estufa e postos em um dessecador, durante 45 min (Brasil, 1992); em seguida, as sementes foram novamente pesadas obtendo-se a percentagem de peso expresso em base úmida, através da expressão analítica abaixo:

$$\%Umidade = \frac{(P - p)}{P - t} \times 100$$

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

3.6.2. Determinação e avaliação da micoflora

O método de incubação utilizado foi o *blotter-test* ou o método do papel de filtro (Neergaard, 1979). As sementes, em número de 10, foram colocadas no interior de placas de Petri (Figura 3.2) sobre substrato constituído de dois discos sobrepostos de papel de filtro umedecidos com água esterilizada; em seguida, as placas de Petri contendo as sementes foram deixadas no LAPPa em ambiente não controlado e, no oitavo dia de incubação, as sementes foram examinadas individualmente, para visualização de colônias, identificação e contagem de fungos e, quando necessário,

examinadas no microscópio estereoscópico. A quantificação da micoflora foi feita considerando-se as porcentagens por amostras avaliadas das sementes contendo fungos.



Figura 3.2. Determinação e avaliação da micoflora em semente de amendoim (Foto: Autor)

3.6.3. Determinação da aflatoxina

Preparo da amostra

As amostras oriundas do armazenamento foram trituradas em moinho de hélice, semelhante a multiprocessador e, com auxílio de peneira de 14 mesh, obteve-se a granulometria necessária; em seguida, foram colocadas em embalagens plásticas fechadas e acondicionadas em refrigerador até o momento da análise.

Preparo das soluções-padrão

Os padrões das aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂, na forma de cristais, foram adquiridos do Laboratório Sigma. Realizou-se a metodologia do preparo das soluções-padrão de acordo com AOAC (2005), através do seguinte processo: as aflatoxinas foram diluídas em metanol, individualmente originando as soluções-mãe com concentrações de 20 µg mL⁻¹; depois as soluções de trabalho com concentrações variadas foram preparadas para utilização na triagem e quantificação das aflatoxinas. Determinou-se a concentração final das soluções padrões das aflatoxinas através de sua absorbância em espectrofotômetro, que foi calculada segundo a equação abaixo:

$$CA = \frac{A \times PM \times 1000}{e}$$

em que:

CA – concentração de aflatoxina, $\mu\text{g mL}^{-1}$

A – absorvância

PM - peso molecular

ϵ - absorvidade molar da micotoxina

Procedimento analítico

As extrações para identificação e confirmação das aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂, nas amostras, foram realizadas de acordo com o método de análise desenvolvido por (Soares & Rodrigues-Amaya) (1989), melhorado por Queiroz (1998); trata-se de um método de baixo custo, preciso, exato e viável de ser executado em pequenos laboratórios. A extração de toxinas por este método é feita com solvente orgânico (metanol) e solução de cloreto de potássio 4%; a purificação do extrato com solução de sulfato de cobre 10% e celite (agente filtrante) tem por finalidade retirar todas as substâncias interferentes, como pigmentos e ácidos graxos. Na partição líquido-líquido utilizou-se hexano como solvente orgânico, para desengorduramento, e clorofórmio, para extração das aflatoxinas (Figura 3.3); em seguida, o extrato foi evaporado em banho-maria (em até 60 °C) e mantido sob refrigeração em freezer, até o momento da análise cromatográfica.



1ª Filtração



2ª Filtração



Fase hexano



Fase clorofórmica

Figura 3.3. Extração e desengorduramento das amostras (Foto: Autor)

Realizou-se a triagem das aflatoxinas nas amostras (Figura 3.4) através de cromatografia em camada delgada (CCD), em duplicata, utilizando-se cromatofolhas de alumínio e a mistura tolueno - acetato de etila - ácido fórmico (60:30:10), como sistema solvente. A aplicação foi feita a 2 cm da base da placa e a eluição até 10 cm, a partir do ponto de aplicação.

A identificação da aflatoxina foi feita através da comparação com Rfs, cor e intensidade de fluorescência das manchas correspondentes às amostras comparadas com as manchas dos padrões. A visualização das aflatoxinas em câmara de luz ultravioleta, de comprimento de ondas de 366 nm.

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

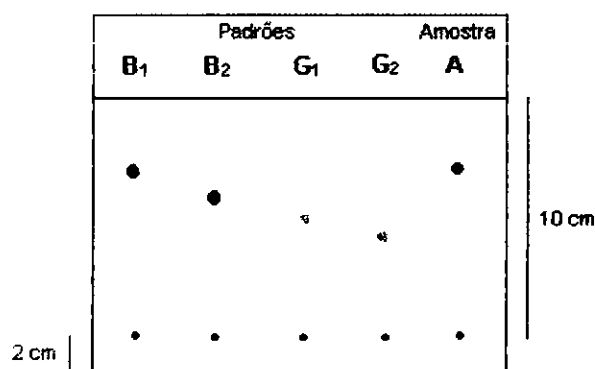


Figura 3.4. Esquema representado uma placa unidimensional de CCD (cromatografia em camada delgada)

A quantificação das aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ se deu 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.

Para o cálculo da concentração de aflatoxina utilizaram-se 500 µL do extrato final e o peso da amostra no extrato final de 8,35 g, através da fórmula seguinte:

$$\mu\text{g toxina / kg amostra} = \frac{S \times Y \times V}{W \times Z}$$

em que:

S - μL 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 μL , do extrato da amostra, μL

Z - aplicação do extrato final, μL

W - peso da amostra, no extrato final, g

Teste de recuperação da aflatoxina B₁

O teste de recuperação consistiu em contaminar uma farinha de amendoim isenta de aflatoxina. Amostras de 50 g foram pesadas em três repetições e a elas se acrescentou uma solução do padrão B₁ (Figura 3.5) 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 doses de extrato de nim), 17,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (para amostra sem inoculação e com diferentes doses de extrato de nim); posteriormente (após 24 h), procedeu-se à extração para verificar o percentual de aflatoxina B₁, recuperada através da metodologia utilizada. O cálculo se deu pela relação entre a quantidade de toxina quantificada e a adicionada no início do procedimento analítico, executado de forma completa.

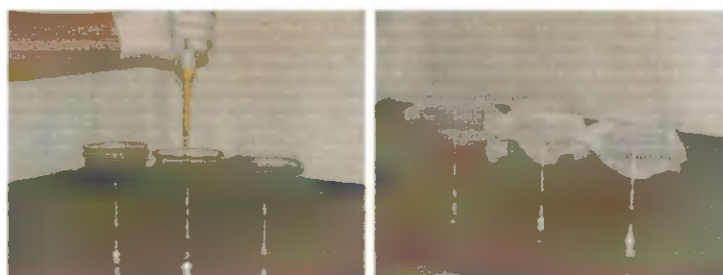


Figura 3.5. Amostras de amendoim contaminadas com Aflatoxina B₁, para teste de recuperação (Foto: Autor)

3.6.4. Delineamento estatístico

Os resultados foram analisados através do Programa Computacional Assistat (Silva & Azevedo, 2006), versão 7.4. beta, utilizando-se o delineamento inteiramente

casualizado (DIC), dispostos em esquema fatorial (2 x 5 x 2 x 3 x) para as embalagens de PET e polietileno trançado, representado por: tratamento com extrato de pimenta-do-reino e de nim, doses dos extratos, procedimento (sementes inoculadas e não inoculadas com o fungo *Aspergillus flavus*) e tempo de armazenamento, respectivamente. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Para a aflatoxina realizou-se a análise estatística cujos dados foram obtidos através da influência de duas doses (70 e 100 mL) e o procedimento não inoculado e inoculado com *Aspergillus flavus*. O delineamento foi o inteiramente casualizado em que os fatores foram distribuídos em esquema fatorial 2 x 2 conforme a ordem apresentada em duplicatas. O Programa Computacional utilizado foi o Assistat (Silva & Azevedo, 2006), versão 7.4. beta, no qual foram feitas as análises de variância (ANOVA) e comparação das médias pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

3.7. Realização das análises: cultivar BR1

Nesta etapa a cultivar BR1 foi submetida aos mesmos tratamentos aplicados à cultivar BRS Havana (umidade (%) e micoflora (%)) acrescidos da análise de germinação, realizada a cada três meses durante o período de armazenamento, representando 4 análises. Todos os tratamentos receberam os mesmos cuidados e procedimentos aplicados à cultivar Havana, descritos nos itens anteriores. germinação, como se segue:

3.7.1. Teste de germinação

Realizou-se o teste de germinação em laboratório utilizando-se quatro repetições de 50 sementes semeadas em folhas de papel *germitest*, sendo duas na base e uma folha em cobertura, umedecidas em água destilada, na proporção de três vezes o peso do papel seco. Rolos foram confeccionados e acomodados em recipientes plástico para evitar perda de umidade, e posteriormente, colocados no germinador (BOD, modelo 101/3) regulado a temperatura de 25 ± 1 °C e para manter

a umidade relativa dentro deste em torno de $95 \pm 2\%$ colocou-se cubas com água na parte inferior.. A avaliação foi realizada nos 5º e 10º dias após a semeadura, computando-se o percentual de plântulas normais (Brasil, 1992).

3.7.2. Delineamento estatístico

Os resultados foram analisados através do Programa Computacional Assistat (Silva & Azevedo, 2006), versão 7.4. beta, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), dispostos em esquema fatorial ($2 \times 5 \times 2 \times 3$) para as embalagens de PET e polietileno trançado, representado por: tratamento com extrato de pimenta-do-reino e de nim, doses dos extratos, procedimento (sementes inoculadas e não inoculadas com o fungo *Aspergillus flavus*) e tempo de armazenamento, respectivamente. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

Segundo Experimento

3.8. Tratamento das sementes com irradiação de cobalto-60 (^{60}Co)

Utilizaram-se sementes de amendoim da cultivar BR1 (32 kg) provenientes de campos de sementes da Embrapa Algodão, Campina Grande, PB.

O processo de irradiação das sementes de amendoim, cultivar BR1, para controle da micoflora foi feito em um irradiador que emite raios γ a partir de ^{60}Co . As amostras de 200 g de sementes, com teor de umidade de 8,01% correspondentes a cada lote, foram acondicionadas em embalagem do tipo PET, antes de serem colocadas no irradiador, para evitar contaminação das sementes após a irradiação por exposição ao ambiente. As doses de radiação gama utilizadas, foram: 0; 0,50; 1,00; 1,50; 2,00; 2,50; 3,00 e 4,00 kGy. Depois de irradiadas as sementes foram transportadas em suas embalagens intactas para o LAPP, onde foram submetidas à determinação da micoflora e ao teor de umidade e testes de germinação, seguindo-se os mesmos procedimentos descritos para esses testes nos itens 3.6 (a e b) e 3.7 (a). A amostra foi dividida em duas partes iguais, em que a primeira foi transferida para embalagens de

polietileno trançado e a outra metade permaneceu nas embalagens de PET formando, assim, dois lotes de aproximadamente 16 kg cada um com 40 embalagens de 200 g.

Delineamento estatístico

Os resultados foram analisados através do Programa Computacional Assistat (Silva & Azevedo, 2006), versão 7.4. beta, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), dispostos em esquema fatorial (8 x 2 x 3), representado por: doses de ⁶⁰Co, embalagem de PET e polietileno trançado e tempo de armazenamento, respectivamente. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Cultivar BRS Havana

4.1.1. Teor de umidade

A análise de variância do teor de umidade relativo a extrato, dose, procedimento e tempo para as sementes de amendoim armazenadas em embalagem de PET e polietileno trançado depois de 9 meses de armazenamento em condições ambientais não controladas se encontram nas Tabelas A e B do apêndice e, na Tabela 4.1, os resultados de extratos, doses, procedimentos e tempo para as embalagens de PET e polietileno trançado.

Tabela 4.1. Valores médios do teor de umidade (%) das sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas durante 9 meses em embalagem de PET e polietileno trançado

Embalagem PET							
Extrato		Dose (mL)		Procedimento		Tempo (meses)	
Nim	7.12 a	100	7,07 ab	NI	6.92 a	3	6,95 a
		70	6,84 bc			6	6,98 a
		40	6,82 bc				
PR	6.81 b	10	6,77 c	I	7,00 a	9	6,96 a
		0	7,32 a				
DMS	0,12	DMS	0,26	DMS	0,11	DMS	0,17
Embalagem Polietileno Trançado							
Extrato		Dose (mL)		Procedimento		Tempo (meses)	
Nim	6.94 a	100	6,76 a	NI	6.76 a	3	6,05 c
		70	6,43 ab			6	6,58 b
		40	6,61 ab				
PR	6.18 b	10	6,38 b	I	7,36 b	9	7,00 a
		0	6,64 ab				
DMS	0,16	DMS	0,36	DMS	0,16	DMS	0,24

PR: Pimenta-do-Reino; NI: Não Inoculado; I: Inoculado

Verifica-se, examinando a Tabela 4.1, que a umidade das sementes de amendoim tende ao equilíbrio com a umidade da atmosfera circundante de forma diferente para todos os tratamentos na embalagem de polietileno trançado e com igualdade estatística para procedimento e tempo na embalagem de PET, indicando que a

umidade não foi influenciada por esses fatores. Os valores médios indicam, ainda, maior umidade para as sementes tratadas com o extrato de nim nas duas embalagens utilizadas, assim como maior umidade para as sementes inoculadas e tratadas com o extrato de pimenta-do-reino na embalagem de polietileno trançado, em que o teor de umidade aumentou estatisticamente com o decorrer do tempo.

Para as doses de 40, 70 e 100 mL (Média = 6,91%), houve igualdade estatística, sendo que a dose de 100 mL não diferiu da 0 mL e a de 10 mL foi igual à dose de 40 e 70 mL na embalagem de PET. Para a embalagem de polietileno trançado a maior umidade do fator dose (6,76%) se deu com 100 mL que, estatisticamente, não diferiu de 70, 40 e 0 mL. Em resumo, tem-se que a umidade variou pouco quando se refere aos valores absolutos dos dados de todos os fatores.

Apoiando-se nos resultados, tem-se que o teor de umidade é influenciado pela umidade relativa do ar e, pela temperatura do ambiente onde foram armazenadas e que, por serem higroscópicas, trocam umidade com o meio, atingindo seu equilíbrio, razão pela qual as sementes acondicionadas nas embalagens de polietileno trançado apresentaram oscilação de umidade ao longo do armazenamento.

Almeida (2003), estudando o acondicionamento de outros tipos de sementes, também constatou que o teor de umidade das sementes pode variar ou não, com as condições do ambiente, armazenamento, período e embalagens.

4.1.2. Micoflora nas sementes de amendoim

Os resumos das análises de variância e o coeficiente de variação correspondente à percentagem de fungos presentes nas sementes de amendoim armazenadas em ambiente não controlado do LAPP, pelo período de 9 meses, em embalagens de PET e polietileno trançado e tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino, se encontram na Tabela 4.2, na qual se observa efeito altamente significativo para todas as variáveis e suas interações duplas, exceto para a variável extrato, referente ao fungo *A. niger*, para a embalagem de PET.

Tabela 4.2. Análise de variância da incidência de fungos nas sementes de amendoim, variedade BRS Havana, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado, durante 9 meses

Fonte de Variação	Embalagem PET				
	GL	Fungos			
		<i>A. flavus</i> QM	<i>A. niger</i> QM	<i>Rhizopus</i> QM	<i>Penicillium</i> QM
Extrato (E)	1	2406,67**	14,97 ^{ns}	3999,70**	666,53**
Dose (D)	4	9870,83**	2630,84**	4845,99**	951,00**
Procedimento(P)	1	149001,67**	54578,14**	42122,28**	2533,18**
Tempo (T)	2	1326,67**	8367,55**	7822,68**	1084,83**
E x D	4	1425,42**	664,79**	3945,33**	666,53**
E x P	1	806,67**	134,85**	5413,48**	666,53**
E x T	2	1511,67**	923,12**	10142,30**	666,53**
P x T	2	1326,67**	7972,70**	2858,04**	1084,83**
Resíduo	180	12,22	9,72	6,94	1,94
CV (%)		4,96	19,99	11,01	42,79
Fonte de Variação	Embalagem Polietileno Trançado				
	GL	Fungos			
		<i>A. flavus</i> QM	<i>A. niger</i> QM	<i>Rhizopus</i> QM	<i>Penicillium</i> QM
Extrato (E)	1	510,42**	570,51**	843,71**	5415,00**
Dose (D)	4	7046,20**	13382,06**	8489,74**	460,00**
Procedimento(P)	1	75967,57**	91620,32**	44542,58**	24401,67**
Tempo (T)	2	218,70**	11320,72**	6780,10**	18731,67**
E x D	4	986,45**	279,72**	2949,71**	698,33**
E x P	1	770,42**	770,38**	570,14**	5415,00**
E x T	2	370,26**	7145,27**	15362,03**	5415,00**
P x T	2	95,38**	1060,98**	18233,84**	18731,67**
Resíduo	180	13,75	12,91	10,69	1,67
CV (%)		4,53	13,66	12,47	12,80

** significativo a 1% de probabilidade, ^{ns} não significativo

Mediante os dados da Tabela 4.3, observa-se que os fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Rhizopus* predominaram sobre os do gênero *Penicillium*, e entre os do gênero *Aspergillus*, o *A. flavus* sobre o *A. niger*.

Tabela 4.3. Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação D x E em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratados com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 9 meses em embalagem de PE i e polietileno trançado.

Doses (mL)	Extrato (Embalagem PET)							
	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	Nim	PR	Nim	PR	Nim	PR	Nim	PR
100	62,08dA	53,33 dB	18,34bA	10,00cB	16,67eA	3,34 dB	0,00 bA	0,00 cA
70	62,50dA	58,75cB	20,84aA	15,84bB	41,68aA	5,42 dB	0,00 bA	0,00 cA
40	67,92cB	72,50 bA	16,67bB	25,84aA	33,33bA	30,00bB	0,00 bA	0,00 cA
10	81,25bA	57,50 cB	17,51bB	24,18aA	29,17cB	41,25aA	0,00 bB	16,67aA
0	94,17aA	94,17 aA	3,34 cA	3,34dA	19,17dA	19,17cA	7,92 aA	7,92bA
DMS (C)	2,78		2,48		2,09		1,11	
DMS (L)	1,91		1,77		1,50		0,79	
Doses (mL)	Extrato (Embalagem Polietileno Trançado)							
	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	Nim	PR	Nim	PR	Nim	PR	Nim	PR
100	62,92dB	67,08 cA	8,34dA	3,76dB	27,09cA	3,76eB	16,67aA	13,34aB
70	82,50cA	67,08 cB	22,51cB	25,84bA	33,34bA	17,09dB	16,67aA	5,84cB
40	87,92bA	79,17 bB	24,59cA	18,34cB	16,67dB	23,34cA	16,67aA	0,00dB
10	89,17bB	95,42 aA	31,67bA	23,34bB	14,17dB	28,34bA	16,67aA	0,00dB
0	94,17aA	94,17aA	52,09aA	52,50aA	49,17aA	49,17aA	7,50bA	7,50 bA
DMS (C)	2,95		2,86		2,60		1,02	
DMS (L)	2,11		2,05		1,86		0,74	

Médias seguida da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; PR = Pimenta-do-reino; Umidade Inicial = 6,94%; micoflora inicial = 13% *A. flavus* e 1% *Rhizopus*

Tem-se, para o fungo *Aspergillus flavus* presente nas sementes de amendoim armazenadas em embalagem de PET e polietileno trançado, uma relação positiva, isto é, a eficiência dos extratos empregados no controle deste fungo aumenta com o aumento das doses aplicadas às sementes de amendoim, sendo a dose de 100 mL a de maior controle, tanto para o extrato de nim como para o extrato de pimenta-do-reino. Viegas, et al. (2005a) estudaram a toxicidade de óleos essenciais de pimenta-do-reino e pimenta longa sobre o crescimento micelial em dois isolados de *Aspergillus flavus* e observaram efeito inibitório do fungo com a aplicação do óleo de pimenta longa.

Entre os extratos tem-se um controle maior dos fungos nas sementes tratadas com extrato de pimenta-do-reino na dose de 100 mL, respectivamente, quando armazenadas em embalagem de PET e polietileno trançado, exceto para a embalagem de polietileno trançado com sementes infestadas por *Penicillium*, em que as doses de 40

e 10 mL foram superiores à de 100 mL. Constatou-se, para a embalagem de PET com sementes infestadas com o mesmo fungo (*Penicillium*), igualdade estatística para os dois extratos e controle total nas doses de 40, 70 e 100 mL.

O fungo *Aspergillus flavus* ocorreu em 94,17% nas sementes não tratadas, observando-se resposta positiva do extrato de pimenta-do-reino e nim no controle deste fungo, a partir da dose de 10 mL para as sementes armazenadas em ambas as embalagens, à exceção do extrato de pimenta-do-reino na embalagem de PET, cuja resposta, positiva, se deu a partir da dose de 40 mL.

Com relação ao fungo *Penicillium*, não houve diferença estatística nas doses de 100, 70 e 40 mL para as sementes tratadas com os extratos e armazenadas nas embalagens de PET. Para a embalagem de polietileno trançado observa-se igualdade estatística do extrato de nim dentro das doses de 100, 70, 40 e 10 mL (16,67%) contra 7,50% da testemunha e, para o extrato de pimenta-do-reino, controle total com as doses de 40 e 10 mL, respectivamente, com maior ocorrência na dose de 100 mL. Este comportamento se deve, sobretudo, aos princípios ativos das plantas, que são mecanismo de defesa contra fatores externos, porém esses princípios podem variar com a espécie vegetal, origem e condições climáticas durante seu desenvolvimento e, também, sua eficácia com relação à metodologia de extração e aplicação dos extratos utilizados ou, ainda, pela diferença de espécie passível de resultar em diferentes reações aos extratos aplicados. Camargo (2007), trabalhando com o óleo essencial de hortelã, reduziu a incidência de *Penicillium* em sementes de espécies florestais tratadas com extratos desse óleo.

Piveta et al. (2007), estudando a micoflora e a qualidade fisiológica das sementes de cedro tratadas com extrato de hortelã, concluíram que o extrato em pó na concentração de 30% inibiu o crescimento do fungo *Aspergillus* spp. e, para o extrato destilado à inibição, foi observada na concentração de 20 e 30%. Para *Rhizoctonia* spp. o extrato de hortelã em pó não foi eficiente no tratamento das sementes. Os tratamentos com os extratos vegetais foram ineficientes, uma vez que, favoreceram a incidência de *Rhizopus* spp.

Tem-se, na Tabela 4.4 o índice de infestação nas sementes de amendoim tratadas com extratos vegetais, submetidas ao procedimento inoculado e não inoculado com *A. flavus*, e armazenadas nas embalagens de PET e polietileno trançado, durante 9 meses.

Tabela 4.4. Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação E x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 9 meses em embalagem de PET e polietileno trançado

Extratos	Procedimentos (Embalagem PET)							
	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
Nim	50,50 aB	96,67 aA	29,67 bA	1,00 aB	46,00 aA	10,00 bB	3,17 bA	0,00aB
PR	40,50 bB	94,00 bA	31,67 aA	0,00 aB	28,33 bA	11,34 aB	9,84 aA	0,00aB
DMS (C)	1,26		1,12		0,95		0,50	
DMS (L)	1,26		1,12		0,95		0,50	
Extratos	Procedimentos (Embalagem Polietileno Trançado)							
	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
Nim	67,33 aB	99,33 aA	49,16 aA	6,51 aB	40,17 aA	16,00 aB	29,67 aA	0,00aB
PR	60,83bB	100,00aA	42,50 bA	7,00 aB	39,50 aA	9,17 bB	10,67 bA	0,00aB
DMS (C)	1,33		1,29		1,18		0,46	
DMS (L)	1,33		1,29		1,18		0,46	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; PR = Pimenta-do-reino; Umidade Inicial = 6,94%; micoflora inicial = 13% *A. flavus* e 1% *Rhizopus*; NI: Não Inoculado; I: Inoculado com *A. flavus*

Em análise aos dados contidos na Tabela 4.4, constata-se maior incidência de *A. flavus* nas sementes inoculadas em embalagem de PET e polietileno trançado. Observa-se, ainda, que o extrato de pimenta-do-reino foi mais eficiente no controle do *A. flavus* que o de nim, exceto quando o amendoim foi armazenado na embalagem de polietileno trançado e inoculado com o *A. flavus*, em que a estatística não detectou diferença dentro dos extratos. Entre os extratos vê-se superioridade estatística nas duas embalagens para as sementes inoculadas com *A. flavus*.

Com relação aos *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium* na embalagem de PET e no procedimento não inoculado, o comportamento foi similar dentre os extratos com superioridade estatística no controle dos *A. niger* e *Penicillium* para o extrato de nim e, contrariamente, para o *Rhizopus* em que o extrato de pimenta-do-reino foi superior ao de nim. Para o procedimento inoculado, a superioridade estatística do controle dentro dos extratos ocorreu com o *A. niger* e o *Rhizopus*, não se tendo detectado *Penicillium* (0,0%). Na embalagem de polietileno trançado para o procedimento não inoculado o comportamento do fungo *A. niger* e o *Penicillium* se deu de forma inversa à sua ocorrência na embalagem de PET, isto é, a menor incidência do *A. niger* e do *Penicillium* se refere às sementes tratadas com o extrato de pimenta-do-reino, tal como

mesmo para o *Rhizopus*, em que o extrato de pimenta-do-reino foi mais eficiente no controle desse fungo, para ambas as embalagens.

Para as sementes que receberam o procedimento inoculado na embalagem de polietileno trançado e PET, não houve ocorrência de *Penicillium* nem diferença estatística dentro dos extratos para *A. niger*; entretanto, o extrato de pimenta-do-reino controlou com maior eficiência o *Rhizopus* frente ao extrato de nim.

O efeito positivo dos extratos de nim e pimenta-do-reino sobre as sementes de amendoim armazenadas por 9 meses nas embalagens de PET e polietileno trançado, se deve principalmente aos princípios ativos das plantas em que, para a pimenta-do-reino, se destaca a piperina e, para o nim, a azadiractina. Segundo Barreto et al. (2003), os princípios ativos são oriundos do metabolismo secundário das plantas, esses compostos são produzidos como mecanismo de defesa da planta contra fatores externos e, sobremaneira, contra patógenos, nos quais se destacam os fungos. Essas propriedades são dependentes de uma série de fatores inerentes às plantas, como órgão utilizado, idade e estágio vegetativo, fatores do ambiente como pH do solo, estação do ano e diferentes tipos de estresse que as plantas sofrem.

Observa-se, também, para os fungos *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium* no procedimento inoculado, quer na embalagem de PET quer na embalagem de polietileno trançado, menor incidência frente ao procedimento não inoculado, fato que se deve, provavelmente, a uma competição entre esses fungos com *A. flavus* quando inoculados as sementes. Observação corroborada por Wicklow et al. (1988), envolvendo o antagonismo fúngico em milho, ao demonstrarem que *Fusarium verticillioides* e *Aspergillus strictum*, assim como alguns fungos de armazenamento, inibiram o crescimento do *A. flavus*. Segundo Lillehoj et al. (1982), *Fusarium* spp. pode ser considerado um potente competidor.

Os valores dos resultados da incidência de fungos nas sementes de amendoim armazenadas por 9 meses em embalagem de PET e polietileno trançado inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* e tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino, se encontram na Tabela 4.5. A análise estatística, considerando-se a ocorrência geral de fungos, indica que houve diferença altamente significativa para extrato, dose, procedimento e tempo (Tabela 4.2). Este fato também é verificado na Tabela 4.5 quando se considera o comportamento de cada fungo para cada embalagem, ao longo do armazenamento.

Tabela 4.5. Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação T x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 9 meses em embalagem de PET e polietileno trançado

Procedimentos (Embalagem PET)								
Tempo (meses)	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
3	46,50 baB	86,00 bA	8,00 cA	0,00 aB	44,75 bA	14,00 aB	2,00 bA	0,00 aB
6	45,00 bB	100,00 aA	37,25 bA	1,52 aB	47,75 aA	12,00 bB	2,51 bA	0,00 aB
9	46,50 aB	100,00 aA	46,75 aA	0,00 aB	19,00 cA	6,00 cB	15,00 aA	0,00 aB
DMS (C)	1,85		1,65		1,4		0,74	
DMS (L)	1,54		1,37		1,17		0,61	
Procedimentos (Embalagem Polietileno Trançado)								
Tempo (meses)	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
3	61,00 bB	99,00aA	58,50 aA	20,25 aB	30,00 bB	34,75 aA	2,00 cA	0,00 aB
6	66,25aB	100,00aA	46,75 bA	0,00 bB	58,25 aA	3,00 bB	3,00 bA	0,00 aB
9	65,00aB	100,00aA	32,25 cA	0,00 bB	31,25 bA	0,00 cB	55,50 aA	0,00 aB
DMS (C)	1,96		1,89		1,73		0,68	
DMS (L)	1,63		1,58		1,44		0,57	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; Umidade Inicial = 6,94%; micoflora inicial = 13% *A. flavus* e 1% *Rhizopus*; NI: Não Inoculado; I: Inoculado com *A. flavus*

Em análise aos dados da Tabela 4.5, tem-se um aumento de infestação de fungos, seja nas sementes inoculadas ou não inoculadas nas embalagens de PET e polietileno trançado com relação ao início da armazenagem em que se constata 13% de *A. flavus* e 1% de *Rhizopus* nas sementes de amendoim (micoflora inicial) e que as variações se devem às espécies de fungo, aos procedimentos e ao tempo de armazenamento. Os resultados evidenciam a mesma porcentagem de *A. flavus* no 3º e no 9º mes de armazenamento no procedimento não inoculado (46,5%) na embalagem de PET. Para a embalagem de polietileno trançado com o *A. flavus* ocorreu igualdade estatística para os 3º, 6º e 9º meses no procedimento inoculado.

Com relação ao *A. niger* e à embalagem de PET observa-se, para o procedimento não inoculado, aumento da infestação a medida em que avança o tempo de armazenamento; o contrário ocorreu com o amendoim acondicionado em embalagem de polietileno trançado; já para o procedimento inoculado na embalagem de PET, a incidência foi constatada apenas no 6º mes, tendo controle (0,00%) total para o 3º e 9º mes. Na embalagem de polietileno trançado o controle se deu no 6 e no 9º mes de armazenamento.

Para o *Rhizopus*, a incidência deste fungo, em percentual, foi maior no 6º mes para as duas embalagens no procedimento não inoculado, enquanto para o procedimento inoculado a infestação diminuiu com o passar do tempo de armazenamento.

Com o *Penicillium*, constata-se aumento da infestação com o tempo de armazenagem no procedimento não inoculado e controle total no procedimento inoculado quer em PET, quer em polietileno trançado.

Com relação ao procedimento (NI e I) para *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium*, as sementes não inoculadas apresentaram, estatisticamente, maior infestação que as sementes inoculadas nas duas embalagens e tempo de armazenamento; para o *A. flavus* as sementes inoculadas se apresentaram duas vezes mais infestadas que as sementes não inoculadas.

O efeito do procedimento inoculado determinando a diminuição da ocorrência de *A. niger*, *Rhizopus* e eliminação do *Penicillium* se deve, provavelmente, à competição entre os fungos por substrato e espaço, tal como a variação dos fatores ambientais (temperatura e umidade relativa do ar) e teor de umidade das sementes que podem ter sido responsáveis pelas oscilações dos valores obtidos, resultados que encontram apoio nos estudos de Nakai (2006) que trabalhou com distribuição de fungos e aflatoxinas em variedade de amendoim armazenado, verificando que a influência mútua entre os fungos pode ocorrer de modo antagônico. O antagonismo é caracterizado pela competição por substrato, podendo ser ativo, quando ocorre inibição por contato, na alteração do substrato, ou quando há parasitismo fúngico; ou passivo, no qual não ocorre uma inibição de um fungo pelo outro, porém, há uma competição por espaço ou por nutrientes essenciais e assim, os resultados indicam comportamento antagônico entre o *A. flavus* e os demais fungos, havendo vantagem para o micro-organismo com maior taxa de crescimento; neste caso, o *A. flavus*, competindo por espaço ou nutrientes, considerado um antagonismo passivo.

4.1.3. Aflatoxina em sementes de amendoim cultivar BRS Havana

Tratamentos com extrato de pimenta-do-reino

O processo de limpeza do extrato feito com precipitação dos pigmentos interferentes e a adição de uma solução de sulfato de cobre a 10 % e, ainda, de partições com hexano, revelaram, cromatograficamente, para o extrato de pimenta-do-reino, difícil resolução em virtude da enorme quantidade de interferentes presentes no extrato (Figura 4.1). Tais interferentes arrastam a aflatoxina durante a eluição da placa podendo mascarar o resultado, fato que pode indicar a necessidade de se desenvolver mais pesquisas visando à melhoria da metodologia de extração da aflatoxina em sementes tratadas com pimenta-do-reino, assim como do processo de limpeza do extrato.

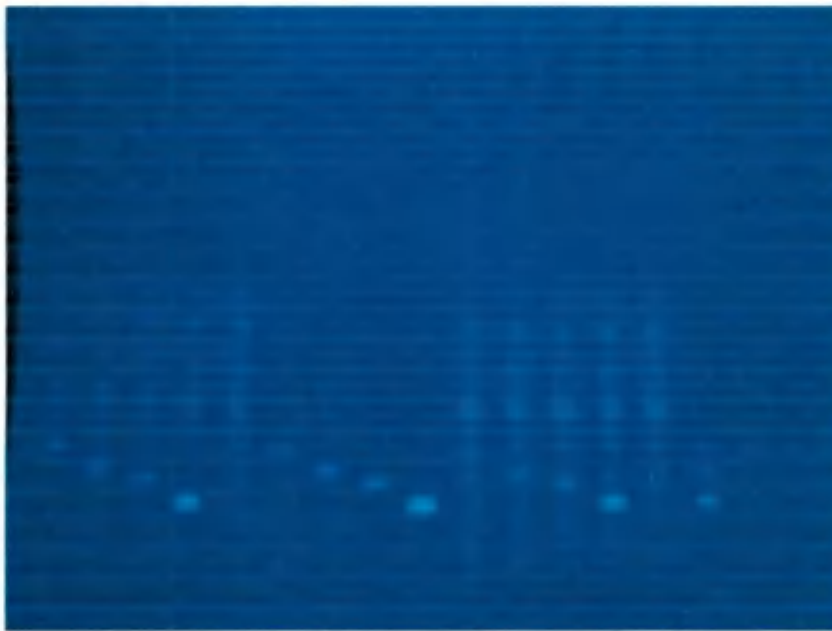


Figura 4.1. Imagem cromatográfica de amostras de aflatoxina das sementes tratadas com o extrato de pimenta-do-reino

Tratamentos com extrato de nim

Não se detectou, para as sementes tratadas com o extrato de nim, nenhuma espécie de aflatoxina nas amostras de caracterização. Segundo Costa (2007), este comportamento na caracterização se deve, provavelmente, ao fato de que o fungo *Aspergillus flavus* necessita de ambiente adequado e tempo para se desenvolver, fato

este aliado ao baixo teor de umidade nas sementes, na ocasião da caracterização da aflatoxina (6,94 %).

As amostras provenientes do armazenamento de 3 meses apresentaram, ao serem submetidas a análises para determinação de aflatoxina, positividade, para aflatoxina B₁, apenas para as que foram tratadas com extrato de nim na dose de 70 mL sem inoculação com *Aspergillus flavus* e com 100 mL do extrato de nim inoculado com *Aspergillus flavus*, ambas armazenadas em embalagem PET.

Observa-se, na Tabela 4.6, a análise de variância e o coeficiente de variação correspondente à quantidade de aflatoxina ($\mu\text{g kg}^{-1}$) das sementes de amendoim submetidas ao procedimento, não inoculada e inoculadas com *Aspergillus flavus*, e tratadas com as doses de 70 e 100 mL de extratos de nim, notando-se efeito altamente significativo para os fatores e sua interação.

Tabela 4.6. Análise de variância da quantidade de Afiatoxina ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de sementes de Amendoim variedade BRS Havana, tratadas com extratos de nim nas doses de 70 e 100 mL em ambiente não controlado, durante o armazenamento

Fator de variação	GL	QM
Dose (D)	1	107,38**
Procedimento (P)	1	107,38**
D x P	1	966,02**
Resíduo	4	0,00
C.V. (%)		0.00

**Significativo a 1 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os dados da Tabela 4.7 indicam a quantidade de aflatoxina ($\mu\text{g/kg}$) para a interação dose do extrato x procedimento nas sementes de amendoim, variedade BRS Havana, armazenadas durante 3 meses.

Tabela 4.7. Quantidade de aflatoxina ($\mu\text{g kg}^{-1}$) para a interação D x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas em embalagem de PET e polietileno trançado

Dose do extrato (mL)	Procedimento	
	Inoculado	Não inoculado
70	0,00 bB	29,30 aA
100	14,65 aA	0,00 bB

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem a 5 %, pelo teste de Tukey.

Em análise dos dados da Tabela 4.7 tem-se, para as sementes submetidas ao procedimento não inoculado e tratadas com o extrato de nim na dose de 100 mL, a ausência de aflatoxina após os 3 meses em que permaneceram acondicionadas em embalagens de PET em condições do LAPPA, sem controle de temperatura e umidade relativa do ar, enquanto, que as sementes não inoculadas e tratadas com extrato de nim na dose de 70 mL manifestaram uma quantidade de aflatoxina, depois do período de armazenamento ($29,30 \mu\text{g kg}^{-1}$), superior à permitida pela legislação para a sua comercialização ($20 \mu\text{g kg}^{-1}$). Comportamento contrário ocorreu com as sementes inoculadas com *Aspergillus flavus*, porém com concentração tolerada pela legislação brasileira para a sua comercialização ($14,65 \mu\text{g kg}^{-1}$), apesar de estatisticamente bem superior à concentração de 70 mL, em que não se registrou aflatoxina.

Verifica-se a presença de aflatoxina nas sementes tratadas com extratos na dose de 100 mL quando inoculadas e na dose de 70 mL quando não inoculadas, fato que poderá ser explicado submetendo-se as amostras a um tempo maior de armazenamento podendo, assim, serem feitas, novas comparações, haja vista que não foram encontrados, na literatura, trabalhos referentes ao emprego de extratos vegetais no controle de *Aspergillus flavus* e aflatoxina em sementes, sendo reportados apenas trabalhos *in vitro* com extratos e substâncias vegetais, para tal propósito.

Observa-se que a formação de micotoxinas é dependente de uma série de fatores, como umidade, pH, temperatura, presença de oxigênio, constituição do substrato, lesões à integridade dos grãos causadas por insetos ou dano mecânico/térmico, quantidade de inóculo fúngico, bem como a interação e competição entre as linhagens fúngicas.

É importante ressaltar, também, que o nível de micotoxinas pode ser extremamente variável entre grãos e sementes de um mesmo lote e o processo de coleta de amostras é uma etapa crítica no monitoramento de micotoxinas.

/ Almeida et. al. (2007), avaliando a produção de aflatoxinas em sementes de amendoim armazenadas em condições de temperatura ambiente e câmara seca ao longo de 180 dias, acondicionadas em embalagens de polietileno e papel multifoliado, não observaram presença da aflatoxina no período inicial. embora tenha sido notado a do tipo B₁. aos 90, 135 e 180 dias, em distintos tratamentos, resultados que corroboram com os deste trabalho. que poderão ser explicados submetendo-se as sementes a um tempo maior de armazenamento em que as sementes contaminadas no campo e não tratadas permanecem contaminadas durante o armazenamento e a umidade da semente não favoreceu o desenvolvimento do fungo *Aspergillus flavus* contido nas mesmas./

Teste de recuperação

O teste de recuperação o qual, segundo Prado et al. (2008) caracteriza o desempenho do método analítico, foi realizado apenas para a aflatoxina B₁ pelo fato de somente esta toxina estar incluída no Grupo 1 (provável carcinógeno); entretanto, nenhuma das amostras analisada apresentou fluorescência característica das aflatoxinas G₁, B₂ e G₂, observando-se somente a presença de aflatoxina B₁. O limite de detecção da metodologia é de 1,94 µg kg⁻¹.

Os níveis de contaminação de aflatoxina B₁ e os valores recuperados a partir de amostras fortificadas, a média e as percentagens de recuperação e coeficiente de variação, estão apresentados nas Tabelas 4.8 e 4.9.

Nas amostras de amendoim submetidas ao procedimento, inoculadas e não inoculadas com *Aspergillus flavus* e contaminadas com aflatoxina B₁ (Tabela 4.8), observaram-se valores de recuperação da aflatoxina que variaram de 6,59 e 8,79 µg kg⁻¹ tendo, como média de recuperação, 98,62%, e um coeficiente de variação médio de 5,56%.

Tabela 4.8. Resultados de recuperação de amostras de amendoim inoculadas e não inoculadas com *Aspergillus flavus* e contaminadas artificialmente com aflatoxina B₁

Procedimento	Quantidade adicionada (µg kg ⁻¹)	Quantidade recuperada (µg kg ⁻¹)	Média (µg kg ⁻¹)	Recuperação (%)	Coefficiente de variação (%)
Não Inoculado	7,8	8,06	8,54	109,57	4,93
		8,79			
Inoculado	7,8	6,59	6,83	87,67	6,18
		7,32			
		6,59			
Média			7,69	98,62	5,56

Nos resultados de recuperação da aflatoxina B₁ (Tabela 4.9) das amostras de amendoim inoculadas e não inoculadas com *Aspergillus flavus*, tratadas com extrato de nim e armazenados em embalagem do tipo PET, observaram-se uma média de recuperação de 101,5 % e coeficiente de variação médio de 5,33%.

Tabela 4.9. Resultados de recuperação de amostras de amendoim inoculadas e não inoculadas com *Aspergillus flavus*, contaminadas artificialmente com aflatoxina B₁ tratadas com extrato de nim e armazenado em embalagem PET

Procedimento	Quantidade adicionada (µg kg ⁻¹)	Quantidade recuperada (µg kg ⁻¹)	Média (µg kg ⁻¹)	Recuperação (%)	Coefficiente de variação (%)
Não Inoculado	17,56	17,58	18,07	102,86	3,98
		19,05			
Inoculado	12,68	17,58	12,69	100,14	6,67
		13,18			
		11,72			
Média			15,38	101,5	5,33

No geral, obteve-se valor médio de recuperação para a aflatoxina variando de 87,67 a 109,57%, com média geral 100,00%. O coeficiente de variação do método trabalhado, ou seja, coeficiente de variação geral foi de 5,44%, considerado aceitável, de acordo com Soares (1987), para o caso de micotoxinas contaminadas, pode variar de

0 a 27%. Prado et al. (2008) afirmam que para a análise de micotoxinas se consideram aceitáveis valores de recuperação no intervalo de 70 a 120% e coeficiente de variação inferiores a 30%.

4.2. Cultivar BR1

4.2.1. Teor de umidade

Na Tabela 4.10 se encontram as médias da umidade das sementes de amendoim armazenadas durante 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado.

Tabela 4.10. Valores médios do teor de umidade (%) das sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado

Embalagem PE 1							
Extrato		Dose (mL)		Procedimento		Tempo (dias)	
PR	8,58 a	100	8,29 b	NI	8,39 a	3	8,04 c
		70	8,30 b			6	8,28 b
		40	8,35 ab				
Nim	8,20 b	10	8,56 a	I	8,40 a	9	8,84 a
		0	8,44 ab				
DMS	0,10	DMS	0,22	DMS	0,10	DMS	0,14
Embalagem Polietileno Trançado							
Extrato		Dose (mL)		Procedimento		Tempo (dias)	
PR	8,52 a	100	7,96 c	NI	8,34 a	3	8,14 b
		70	8,09 bc			6	7,61 c
		40	8,53 a				
Nim	8,12 b	10	8,37 ab	I	8,29 a	9	9,20 a
		0	8,64				
DMS	0,15	DMS	0,34	DMS	0,15	DMS	0,22

PR: Pimenta-do-Reino; NI: Não Inoculado; I: Inoculado

As sementes acondicionadas em embalagem de PET e polietileno trançado durante o período de armazenagem, não apresentaram grandes oscilações de umidade para os fatores extrato, dose, procedimento e tempo, à exceção do fator tempo, na embalagem de polietileno trançado.

Verifica-se, ainda, para esta embalagem, que as sementes atingiram, no primeiro tempo de armazenamento (30 dias) 8,14% tendo este sido estatisticamente superior ao segundo tempo (60 dias) (7,61%) e, em seguida, ao terceiro tempo (90 dias), as sementes voltaram a ganhar umidade (9,20%). Esses resultados indicam, para este tipo de embalagem, que o teor de umidade foi influenciado pela umidade relativa do ar e pela temperatura do ambiente, afirmativa que se apoia no que relata Gurjão (1995) quando afirma que as sementes acondicionadas nas embalagens permeáveis e armazenadas em condições ambientais apresentam oscilações em seu teor de umidade, ao longo do armazenamento.

4.2.2. Micoflora nas sementes de amendoim cultivar BR1

Os resumos das análises de variância e o coeficiente de variação correspondente à percentagem de fungos presentes nas sementes de amendoim armazenadas em ambiente não controlado do LAPP, pelo tempo de 90 dias, em embalagens de PET e polietileno trançado e tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino, se encontram na Tabela 4.11., em que se observa efeito significativo (1 e 5% de probabilidade) para todas as variáveis e suas interações duplas, exceto para a variável extrato na embalagem de polietileno trançado e para o fungo *A. niger*.

Tabela 4.11. Análise de variância da incidência de fungos nas sementes de amendoim variedade BRI, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino, armazenadas em ambiente não controlado, durante 90 dias

Fonte de Variação	Embalagem PET				
	GL	Fungos			
		<i>A. flavus</i> QM	<i>A. niger</i> QM	<i>Rhizopus</i> QM	<i>Penicillium</i> QM
Extrato (E)	1	5801,67**	2158,56**	10136,88**	59,80**
Dose (D)	4	1963,54**	5338,36**	5680,47**	1640,32**
Procedimento(P)	1	15681,67**	5603,57**	239,68**	3999,38**
Tempo (T)	2	3182,92**	16302,17**	15168,75**	1466,74**
E x D	4	1273,54**	7289,98**	998,98**	11,01*
E x P	1	3081,67**	53988,00**	5998,40**	601,28**
E x T	2	1552,91**	5053,35**	6153,15**	1560,71
Resíduo	180	20,28	8,88	5,27	3,61
CV (%)		4,98	10,64	13,24	27,78
Fonte de Variação	Embalagem Polietileno Trançado				
	GL	Fungos			
		<i>A. flavus</i> QM	<i>A. niger</i> QM	<i>Rhizopus</i> QM	<i>Penicillium</i> QM
Extrato (E)	1	16006,66**	21,60 ^{ns}	33.750*	201,66**
Dose (D)	4	5654,58**	1919,39**	8775,41**	1477,70**
Procedimento (P)	1	2406,66**	25792,26**	3760,41**	1500,00**
Tempo (T)	2	755,41**	7377,35**	3406,66**	152,91**
E x D	4	3446,25**	1088,47**	752,50**	29,79**
E x P	1	166,66**	16533,60**	4250,41**	81,66**
E x T	2	3327,91**	411,350**	365,00**	137,91**
Resíduo	180	10,83	5,70	7,08	6,38
CV (%)		3,75	10,51	16,33	47,39

** significativo a 1% de probabilidade, * significativo a 5% de probabilidade ^{ns} não significativo

Mediante os dados relativos da interação D x E (Tabela 4.12) tem-se que os fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Rhizopus* predominaram sobre o do gênero *Penicillium* e entre os do gênero *Aspergillus*, o *A. flavus* sobre o *A. niger*.

Tabela 4.12. Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação D x E em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado

Doses (mL)	Extrato (Embalagem PET)							
	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	PR	Nim	PR	Nim	PR	Nim	PR	Nim
100	74,17cB	92,91bA	16,67cB	46,66 aA	16,67cA	9,17 bB	1,67cA	0,00eB
70	72,50 cB	95,41bA	15,00cB	30,83cA	16,25cA	0,00 cB	2,92cA	1,67dB
40	90,41 bA	92,91bA	24,17 bB	42,08bA	18,75bA	0,00 cB	13,75aA	11,67 bB
10	94,16 aB	99,16aA	56,67 aA	22,92dB	33,33aA	10,84 bB	13,38aA	13,34aA
0	96,25 aA	96,25b aA	1,50dA	12,50eA	34,17 aA	34,17 aA	5,00bA	5,00cA
DMS (C)	3,58		2,37		1,82		1,51	
DMS (L)	2,56		1,69		1,30		1,08	
Doses (mL)	Extrato (Embalagem Polietileno Trançado)							
	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	PR	Nim	PR	Nim	PR	Nim	PR	Nim
100	54,58cB	91,66cA	7,83dB	21,66bA	3,33dB	11,25bA	3,33aC	0,00cB
70	62,91bB	95,00 bA	19,16cB	21,66bA	7,08cB	11,25bA	3,33aC	2,91bA
40	92,08aB	98,33aA	22,08bA	21,66bA	20,83bA	8,33cB	2,08aC	0,00cB
10	93,75aB	100,00 aA	30,83aA	17,91cB	8,33cB	12,50bA	7,91bA	4,58bB
0	94,16 aA	94,16bcA	32,08 aA	32,08 aA	40,00aA	40,00aA	14,58aA	14,58aA
DMS (C)	2,61		1,89		2,11		2,01	
DMS (L)	1,87		1,35		1,51		1,43	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. PR = pimenta-do-reino; Umidade Inicial = 8,12%; micoflora inicial = 55% *A. flavus*; 36,67% *A. niger* e 36,67% *Rhizopus*

Constata-se para o fungo *Aspergillus flavus* presente nas sementes de amendoim armazenadas em embalagem de PET e polietileno trançado, uma relação positiva para a dose de 100 mL dos extratos empregados no controle deste fungo, tanto para o extrato de nim como para o extrato de pimenta-do-reino.

Vilela (2007) concluiu, em seus estudos, que o bom desempenho do óleo sobre o crescimento micelial dos fungos *A. flavus* e *A. parasiticus* confirma sua eficiência como antifúngico nas doses mais elevadas.

Gonçalves et al. (2003) não detectaram, em seus trabalhos com extratos de cravo da índia no controle de fungos em sementes de feijão, a presença de *A. flavus* nas concentrações de 1, 5 e 10% do extrato.

O fungo *Aspergillus flavus* ocorreu em 96,25% nas sementes não tratadas e armazenadas em embalagem de PET e em 94,16% nas sementes armazenadas em

polietileno trançado, observando-se resposta positiva do extrato de pimenta-do-reino no controle deste fungo, a partir da dose de 10 mL e resposta positiva do extrato de nim a partir da dose de 40 mL na embalagem de PET.

/ Para as sementes não tratadas e armazenadas em embalagem de PET, o percentual de *A. flavus* foi maior, frente às armazenadas em embalagem de polietileno trançado, em que o resultado pode ser em virtude dessas embalagens terem proporcionado as condições ideais para o desenvolvimento deste fungo proveniente do campo, conforme se observa pela micoflora inicial das sementes, em que o fungo *A. flavus* apareceu em 55% nas sementes. /

Tem-se, entre os extratos, um controle maior do fungo *Aspergillus flavus* nas sementes tratadas com extrato de pimenta-do-reino, respectivamente quando armazenadas em embalagem de PET e polietileno trançado; para o *A. niger* e o *Rhizopus* na embalagem de PET e polietileno trançado, ocorreu controle do extrato de pimenta-do-reino na maior dose (100 mL); já o fungo *Penicillium*, nas sementes armazenadas em ambas as embalagens, o controle se deu com o extrato de nim para todas as doses testadas, frente ao extrato de pimenta-do-reino. Brande et al. (2000), avaliando o efeito dos extratos vegetais no controle de patógenos em sementes de cebola, concluíram que o extrato de pimenta-do-reino não foi eficiente no controle do *Penicillium* e não estimulou o desenvolvimento deste fungo.

O índice de infestação nas sementes de amendoim (cultivar BRI) submetidas ao procedimento inoculado e não inoculado com *A. flavus*, tratadas com extratos vegetais de nim e pimenta-do-reino e armazenadas nas embalagens de PET e polietileno trançado durante 90 dias, encontra-se na Tabela 4.13.

Tabela 4.13. Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação E x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado

Extratos	Procedimentos (Embalagem PET)							
	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
PR	73,83bB	97,16 bA	14,83 bB	35,17aA	19,83 aB	27,83 aA	9,83 bA	4,84aB
Nim	90,83 aB	99,83 aA	50,83 aA	11,17bB	16,84 bA	4,84 bB	12,00 aA	0,67bB
DMS (C)	1,62		1,07		0,82		0,64	
DMS (L)	1,62		1,07		0,82		0,64	
Extratos	Procedimentos (Embalagem Polietileno Trançado)							
	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
PR	75,50 bB	83,50 bA	24,46 bA	20,33aB	15,66 bA	16,16 aA	9,33aA	3,16aB
NIM	93,50 aB	98,16 aA	41,66 aA	4,33 bB	24,83 aA	8,50 bB	6,33bA	2,50aB
DMS (C)	1,18		0,85		0,95		0,91	
DMS (L)	1,18		0,85		0,95		0,91	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; PR = Pimenta-do-reino; Umidade Inicial = 8,12%; micoflora inicial = 55% *A. flavus*, 36,67% *A. niger* e 36,67% *Rhizopus*; NI: NãoInoculado; I: Inoculado

Nota-se que a maior incidência de *A. flavus* ocorreu nas sementes submetidas ao procedimento inoculadas em embalagem de PET e polietileno trançado e o extrato de pimenta-do-reino foi mais eficiente no controle deste fungo que o de nim, para ambos os procedimentos.

Com relação ao *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium* na embalagem de PET e no procedimento não inoculado, tem-se maior controle para o *A. niger* e *Penicillium* com o extrato pimenta-do-reino e, contrariamente, para *Rhizopus*, em que o extrato de nim foi superior ao de pimenta-do-reino; para a embalagem de polietileno trançado tem-se que o maior controle para os fungos *A. niger* e *Rhizopus* se deu quando as sementes foram tratadas com extrato de pimenta-do-reino; já para o *Penicillium*, o maior controle foi registrado nas sementes tratadas com o extrato de nim. Mossini (2006) destaca, em seus estudos, a ação fúngica do extrato do nim em *A. flavus* e fungos do gênero *Fusarium*.

No procedimento inoculado o maior controle para os fungos *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium* se deu com o extrato de nim para as sementes armazenadas, quer em embalagem de PET, quer em embalagem de polietileno trançado; comportamento inverso teve o *A. flavus* em ambas as embalagens, quando ocorreu uma incidência menor deste fungo nas sementes tratadas com o extrato de pimenta-do-reino.

Baldiga et al. (2003), avaliando o tratamento de feijão miúdo com extratos de Fumo, Aroeira, Manjeriço, Araucária, Língua-de-vaca, Picão-preto, Guaxuma e pimenta-do-reino, observaram que nenhum dos extratos testados foi capaz de reduzir a incidência de fungos, sendo a incidência de alguns deles até favorecida com o tratamento.

Os dados referentes à incidência de fungos nas sementes de amendoim variedade BR1 para interação T x E se encontram na Tabela 4.14.

Tabela 4.14. Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação T x E em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado

Tempo (dias)	Extrato (Embalagem PET)							
	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	PR	Nim	PR	Nim	PR	Nim	PR	Nim
30	73,50 bB	93,00bA	48,25 aA	37,25aB	49,00 aA	16,50aB	4,28cA	0,00cB
60	91,75aB	94,00bA	22,75 bB	31,25bA	5,50cB	7,00cA	11,75aA	4,00bB
90	91,25 aB	99,00aA	4,00cB	24,50cA	17,00bA	9,00bB	6,00bB	15,00aA
DMS (C)	2,38		1,57		1,21		1,00	
DMS (L)	1,98		1,31		1,01		0,83	
Tempo (dias)	Extrato (Embalagem Polietileno Trançado)							
	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	PR	Nim	PR	Nim	PR	Nim	PR	Nim
30	73,50 bB	99,75 aA	31,00aB	36,50 aA	13,50 bB	14,75bA	7,75aA	3,25bB
60	74,75 bB	92,00 cA	16,50cA	16,25bA	21,25aB	26,00 aA	7,75aA	5,75aB
90	90,25 aB	95,75 bA	19,70bA	16,24 bB	13,00bA	9,25cB	3,50bA	4,25bA
DMS (C)	1,73		1,26		1,40		1,33	
DMS (L)	1,45		1,05		1,17		1,11	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. PR = Pimenta-do-reino, Umidade Inicial = 8,12%, micoflora inicial = 55% *A. flavus*, 36,67% *A. niger* e 36,67% *Rhizopus*

Os resultados obtidos ao longo do armazenamento de 90 dias (Tabela 4.14) do fungo *A. flavus* nas sementes de amendoim, revelam que a incidência aumenta com o aumento do período de armazenamento, independente do tipo de embalagem utilizada, à exceção da embalagem de PET para o extrato de pimenta-do-reino, em que nos 60 e 90 dias ocorreu uma igualdade estatística (91,75 e 91,25%) e, para o extrato de nim na embalagem de polietileno trançado, em que a incidência reduziu nos 60 dias de armazenamento. Entre os extratos ocorreu superioridade estatística nas duas embalagens para as sementes tratadas com o extrato de pimenta-do-reino.

Para o fungo *A. niger*, observa-se uma redução ao longo do armazenamento nas sementes tratadas com o extrato de nim para as duas embalagens, ou seja, todos os períodos do armazenamento analisados apresentaram percentual menor de *A. niger* em relação à micoflora inicial das sementes (36,67%), com exceção das sementes armazenadas nos primeiros 30 dias na embalagem de PET (37,25%).

Em relação ao *Rhizopus*, vê-se, para 60 dias de armazenamento, a menor incidência deste fungo nas sementes tratadas com o extrato de pimenta-do-reino na embalagem de PET; comportamento contrário se deu, quando as sementes foram armazenadas em embalagem de polietileno trançado ocorrendo, aos 60 dias, a maior incidência. Para *Penicillium* a menor incidência foi registrada aos 30 dias de armazenamento na embalagem de PET e, para o extrato de nim, este inibiu o seu crescimento até os 30 dias; na embalagem de polietileno trançado observa-se maior controle deste fungo até os 60 dias com extrato de nim, frente ao extrato de pimenta-do-reino.

Segundo Mossini & Kimmelmeir (2005) o composto azadiractina, extraído do nim, exibe boa eficácia contra importantes pragas na agricultura porém a vida residual dos princípios ativos presentes no extrato de nim é relativamente curta, podendo ser considerada uma desvantagem do ponto de vista econômico; entretanto, ecologicamente, produtos com tais características não perturbam o ecossistema nem causam o aparecimento de novas pragas.

4.2.3. Germinação das sementes de amendoim tratadas com extratos vegetais

Os resumos das análises de variância correspondentes à percentagem de germinação presentes nas sementes de amendoim armazenadas em ambiente não controlado do LAPPA, por um período de 90 dias, em embalagens de PET e polietileno trançado e tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino, encontram-se na Tabela 4.15, na qual se observa efeito altamente significativo para todas as variáveis e suas interações duplas.

Tabela 4.15. Análise de variância da germinação de sementes de amendoim variedade BR1 tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado, durante 90 dias

Fonte de Variação	GL	QM	
		Embalagem PET	Embalagem Polietileno Trançado
Extrato (E)	1	59000,70**	66800,07**
Dose (D)	4	6343,72**	3962,60**
Procedimento(P)	1	16716,70**	10935,00**
Tempo (T)	2	13399,93**	11372,38**
E x D	4	5360,68**	5166,69**
E x P	1	1349,00**	1206,02**
E x T	2	1034,63**	131,15**
D x P	4	624,87**	133,54**
D x T	8	237,21**	302,44**
P x T	2	1263,90**	1032,46**
Resíduo	180	16,85	137,50

** significativo a 1% de probabilidade

Para a interação E x D (Tabela 4.16) observa-se, para extratos e doses na embalagem de PET, maior inibição da germinação quando as sementes foram tratadas com nim.

Tabela 4.16. Valores médios da germinação (%) para a interação E x D em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias, em embalagem de PE1 e polietileno trançado

Embalagem PET					
Extratos	Doses dos extratos (mL)				
	100	70	40	10	0
PR	61,75aA	57,08 aB	53,50 aC	48,54 aD	61,12 aA
Nim	6,42 bD	12,04 bC	22,00 bB	23,62 bB	61,12 aA
DMS (C)	2,34				
DMS (L)	3,26				
CV	10,08				
Embalagem Polietileno Trançado					
Extratos	Doses dos extratos (mL)				
	100	70	40	10	0
PR	58,62 aA	57,42 aB	56,92 aB	51,17 aD	55,08 aC
Nim	11,54 bC	9,67 bD	10,92 bC	25,17 bB	55,08 aA
DMS (C)	0,49				
DMS (L)	0,69				
CV	2,23				

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; PR: Pimenta-do-Reino; Germinação inicial = 74%, Umidade inicial = 8,12%

Observa-se, em ambas as embalagens, superioridade estatística da germinação com relação às sementes tratadas com o extrato de pimenta-do-reino frente às sementes tratadas com nim. Com relação ao efeito dos extratos dentro de cada dose tem-se, nas duas embalagens, superioridade do extrato de pimenta-do-reino na dose de 100 mL, isto é, as sementes tratadas com esta dose apresentaram o maior percentual de germinação em relação às demais doses e a medida em que se reduz as doses, ocorre diminuição da germinação para este extrato (PR); comportamento contrário se observa para o extrato de nim, à exceção da dose de 100 mL na embalagem de polietileno trançado que, estatisticamente foi igual à dose de 40 mL; tal comportamento indica que a germinação das sementes de amendoim é inibida pela ação do extrato de nim e é influenciada ainda pela dose do extrato recebido pelas sementes assim como pelo tipo de embalagem em que as sementes foram armazenadas.

Gonçalves et al. (2003), avaliando os tratamentos químico e natural sobre a qualidade fisiológica e sanitária em sementes de feijão armazenadas, concluíram que os produtos testados (cravo da índia e óleo de dendê) proporcionaram a preservação da qualidade fisiológica das sementes, exceto o extrato de cravo da índia a 10% que diminuiu o percentual de germinação das sementes mantidas em embalagens metálicas.

Segundo Souza (2000), o emprego de produtos de origem vegetal (extratos e óleos essenciais) no tratamento de sementes pode afetar o seu desempenho, quanto à sua qualidade fisiológica e sanitária, sendo diferente os efeitos com as espécies vegetais empregadas.

/ Analisando o comportamento da germinação em sementes de amendoim, cultivar BR1, submetidas a diferentes tratamentos ao longo de 90 dias de armazenamento (Tabela 4.17), constata-se que a germinação das mesmas diminui ao longo do tempo/e que é influenciada pelo tratamento recebido para a sua manutenção sendo o extrato de pimenta-do-reino mais eficiente que o de nim, quer com as sementes armazenadas em PET, quer em embalagem de polietileno trançado.

Tabela 4.17. Valores médios da germinação (%) para a interação E x T em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PE1 e polietileno trançado.

Extratos	Tempo (Embalagem PET)			Tempo (Embalagem Polietileno Trançado)		
	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias
PR	67,42 aA	55,07 aB	46,62 aC	67,65 aA	55,37 aB	44,50 aC
Nim	43,55 bA	19,22 bB	13,75 bC	36,20 bA	16,20 bB	12,12 bC
DMS (C)	1,81			0,38		
DMS (L)	2,17			0,46		
CV	10,08			2,23		

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; PR: Pimenta-do-Reino; Germinação inicial = 74%, Umidade inicial = 8,12%

Verifica-se superioridade em todos os períodos da armazenagem das sementes de amendoim tratadas com o extrato de pimenta-do-reino sobre o de nim, em 23,87; 35,85 e 32,87%, respectivamente, para os três tempos de armazenamento em PET e de 31,4, 39,17 e 32,38% para as sementes armazenadas em polietileno trançado, nesta mesma ordem (30, 60 e 90 dias).

/ De acordo com Lima & Araújo (1999), sementes de amendoim infectadas principalmente com *Aspergillus flavus* tem sua qualidade reduzida mais rapidamente do que outras espécies; referidos resultados corroboram com os deste trabalho, em que as sementes, antes de serem armazenadas, foram previamente inoculadas com *A. flavus*, além de saber que parte da incidência do *A. flavus* encontrado nas sementes, se deve a sua infestação ainda em campo, isto é, antes de serem tratadas e armazenadas.

De acordo com Oliveira (1997), os fungos *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. também podem causar redução no percentual de germinação, quando associados às sementes de milho além de aumentarem sua incidência com o período de armazenamento.

Para as embalagens (PET e polietileno trançado) e extratos estudados, a redução foi maior do 1º para o 2º tempo, sendo que as sementes tratadas com nim apresentaram a maior perda na germinação, ou seja, do 1º para o 2º tempo estas sementes perderam 24,33 e 31,45%, respectivamente, já do 2º para o 3º tempo a perda foi de 5,47% para PET e 4,08% para polietileno trançado. Para o extrato de pimenta-do-reino a perda de germinação foi bem menor sendo de 12,25 e 12,28% e de apenas 8,45 e 10,87% respectivamente, do 2º para o 3º tempo (final do armazenamento).

Para a interação D x P (Inoculado I, Não Inoculado NI), verifica-se perda de germinação em ambos os procedimentos e embalagens (Tabela 4.18); no entanto, no procedimento não inoculado esta redução foi menor em relação à germinação inicial de 74%.

De maneira geral, tem-se que nas sementes submetidas ao procedimento não inoculado com *A. flavus* e armazenadas em embalagens de polietileno trançado (porosas) a redução da germinação foi mais pronunciada que nas embalagens de PET (hermética), e que estes últimos podem ter sido influenciados pela eficácia do extrato de pimenta-do-reino, uma vez que os maiores índices de viabilidade foram registrados em sementes tratadas por este extrato.

Tabela 4.18. Valores médios da germinação (%) para a interação D x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno uançado

Doses (mL)	Procedimentos (Embalagem PET)		Procedimentos (Embalagem Polietileno Trançado)	
	NI	I	NI	I
100	44,46 cA	23,71 cB	39,54 dA	30,62 bB
70	43,21 cA	25,91 bcB	41,58 cA	25,50 eB
40	48,42 bA	27,08 bB	41,25 cA	26,58 dB
10	46,08 bcA	26,08 bcB	46,50 bA	29,83 cB
0	63,17 aA	59,08 aB	60,67 aA	49,50 aB
DMS (C)	3,26		0,69	
DMS (L)	2,33		0,49	
CV	10,08		2,23	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; PR: Pimenta-do-Reino; Germinação inicial = 74%. Umidade inicial = 8.12%

Observa-se ainda, para as sementes tratadas nas cinco doses dos extratos e armazenadas nos dois tipos de embalagens, uma igualdade estatística para as doses de 100 e 70 mL na embalagem de PET e 70 e 40 mL na embalagem de polietileno trançado para o procedimento não inoculado, em que esta embalagem (polietileno trançado), no procedimento não inoculado apresentou um aumento no percentual da germinação à medida em que as doses aplicadas dos extratos diminuíram.

Para as sementes armazenadas em embalagem de PET, quer para o procedimento não inoculado, quer para o procedimento inoculado com *A. flavus*, a dose mais significativa com relação ao percentual de germinação foi a de 40 mL, tendo maior germinação frente às doses de 10, 70 e 100 mL e sendo inferior a testemunha (0 mL).

Medeiros et al. (2007), avaliando o pó de folhas secas e verdes de nim sobre a qualidade das sementes de feijão caupi, observaram que as sementes tratadas com o pó de nim diferiram em relação à testemunha, que apresentou maior porcentagem de germinação.

Tem-se, na Tabela 4.19, a germinação das sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus*, tratadas com extratos vegetais de nim e pimenta-do-reino e armazenadas nas embalagens de PET e polietileno trançado durante 90 dias.

Tabela 4.19. Valores médios da germinação (%) para a interação E x P em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado

Extratos	Procedimentos (Embalagem de PET)		Procedimentos (Embalagem de Polietileno Trançado)	
	NI	I	NI	I
PR	67,11 aA	45,68 aB	64,83aA	46,85 aB
Nim	31,02 bA	19,07 bB	26,98 bA	17,97 bB
DMS (C)	1,48		0,32	
DMS (L)	1,48		0,32	
CV	10,08		2,25	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; PR: Pimenta-do-Reino; Germinação inicial = 74%, Umidade inicial = 8,12%

Em análise dos dados contidos na Tabela 4.19, constata-se maior germinação nas sementes que foram submetidas ao procedimento não inoculadas frente ao inoculado, para o extrato de pimenta-do-reino e nim, para o armazenamento na embalagem de PET e polietileno trançado. Ressalta-se que o fungo *A. flavus*, quando inoculado nas sementes, causa efeitos, como enfraquecimento do embrião seguido de sua morte (Dhingra, 1985). Segundo Morais & Mariotto (1985), os fungos *Aspergillus*, *Penicilium* e *Rhizopus* se destacam pela frequência com que ocorrem em sementes de amendoim e pela sua ação sobre elas, prejudicando a germinação ou causando tombamento das plântulas após a germinação.

Observa-se, ainda, que o extrato de pimenta-do-reino obteve um percentual maior de sementes germinadas frente ao extrato de nim, quer para a embalagem de PET quer para a embalagem de polietileno trançado e para ambos os procedimentos.

O efeito positivo dos extratos de pimenta-do-reino sobre as sementes de amendoim em ambas as embalagens se deve aos princípios ativos que se destaca a piperina, para a pimenta-do-reino. Este extrato provocou efeitos fitotóxicos em maior intensidade em relação ao extrato de nim, pois todos os resultados da germinação foram superiores.

Viegas et al. (2005b) estudando a toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *A. flavus*, concluíram que o óleo de pimenta-do-reino não inibiu o crescimento micelial de nenhum dos isolados de *A. flavus*.

✓ Avaliando a germinação (%) das sementes de amendoim armazenadas (Tabela 4.20) em embalagens PET e polietileno trançado, percebe-se para todas as doses uma redução no percentual da germinação, ao longo da armazenagem. ✓

Tabela 4.20. Valores médios da germinação (%) para a interação D x T em sementes de amendoim inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* tratadas com extratos vegetais em diferentes doses e armazenadas por 90 dias em embalagem de PET e polietileno trançado

Doses (mL)	Tempo (Embalagem PET)			Tempo (Embalagem Polietileno Trançado)		
	30 dias	60 dias	90 dias	30 dias	60 dias	90 dias
100	42,93 dA	31,3 bB	28,00 bB	48,31 cA	32,00 dB	24,93 bC
70	48,37 cA	29,62 bB	25,68 bC	44,31 dA	31,31 dB	25,00 bC
40	55,62 bA	32,81 bB	24,61 bC	41,00 eA	36,18 bB	24,56 bC
10	52,93 bA	29,62 bB	25,68 bC	58,37 bA	33,93 cB	22,18 cC
0	74,00 aA	61,00 aB	46,75 aC	67,62 aA	52,75 aB	44,87 aC
DMS (C)	4,00			0,86		
DMS (L)	3,43			0,74		
CV	10,08			2,23		

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey de 5% de probabilidade; Germinação inicial = 74%, Umidade inicial = 8,12%

Observando-se os dados da Tabela 4.20, tem-se uma redução no percentual da germinação das sementes armazenadas quer em embalagem de PET ou em embalagem de polietileno trançado, com relação ao início da armazenagem, em que se constatam 74% de sementes de amendoim germinada (germinação inicial).

Verifica-se que a germinação diminui com o aumento do período de armazenamento, independente do tipo de embalagem utilizada, e que não houve uma uniformidade na conservação das sementes ou seja, para a dose de 100 mL a embalagem de polietileno trançado conservou em melhor estado as sementes de amendoim durante 30 dias, com igualdade estatística nos 60 dias; já no final do armazenamento (90 dias) a embalagem de PET obteve um percentual maior de sementes germinadas, variação que se deu para as demais doses; entretanto, para a testemunha a embalagem de PET superou estatisticamente a embalagem de polietileno trançado a partir dos 30 dias de armazenamento, fato que constata que a embalagem de PET contribui significativamente para a manutenção da viabilidade das sementes não tratadas com extratos vegetais.

Com relação ao efeito dos extratos dentro de cada dose tem-se, na embalagem de PET, para 30 e 60 dias de armazenamento, superioridade da dose de 40 mL, sendo estatisticamente igual à dose de 100 mL para o período de 60 dias e para os 90 dias o maior percentual de germinação se deu na maior dose (100 mL) que, estatisticamente, foi igual às demais (70, 40 e 10 mL). Na embalagem de polietileno trançado tem-se,

para os primeiros 30 dias, superioridade na dose de 10 mL em relação às demais, enquanto aos 60 dias de armazenamento o maior percentual de germinação foi detectado na dose de 40 mL e ao final do armazenamento, ocorreu uma igualdade estatística para as doses, de 100, 70 e 40 mL.

4.3. Resultado do tratamento das sementes com ^{60}Co

4.3.1. Teor de umidade

Determinou-se a umidade das sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co antes e após o processo de radiação. Na Tabela 4.21 se encontram os valores médios do teor de umidade.

Analisando a Tabela 4.21, tem-se que a umidade das sementes de amendoim tende ao equilíbrio com a umidade da atmosfera de forma diferente para os tratamentos embalagem e tempo.

Observa-se que os valores médios indicam maior umidade para as sementes ao longo do período, sendo maior a medida em que o tempo avança.

Com relação às embalagens verifica-se, estatisticamente, que a umidade das sementes armazenadas durante os 60 dias em embalagem de PET foi maior frente à de polietileno trançado.

Tabela 4.21. Valores médios do teor de umidade (%) das sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co em diferentes doses e armazenadas por 60 dias em embalagem de PET e polietileno trançado

Doses (kGy)		Embalagem		Tempo (dias)	
0,0	8,83 a				
0,50	8,51 b	PET	8,78 a	8	8,01 c
1,00	8,50 b				
1,50	8,83 a				
2,00	8,77 a				
2,50	8,47 b			30	8,57 b
3,00	8,56 b	PeT	8,48 b		
4,00	8,57 b				
DMS	0,18	DMS	0,05	DMS	0,08

PeT: Polietileno Trançado; umidade inicial = 8,12%

Para o fator dose houve igualdade estatística para 0,0; 1,50 e 2,00 kGy (média = 8,81) e 0,50; 1,00; 2,50; 3,00 e 4,00 kGy (média = 8,52). Em geral, para os fatores dose e embalagens a influência da umidade foi pequena quando comparada com o tempo, sendo esta variação influenciada pela umidade relativa do ar e pela temperatura do ambiente, como mencionado anteriormente.

4.3.2. Micoflora das sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co

Os resumos das análises de variância e o coeficiente de variação correspondente à percentagem de fungos presentes nas sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado do LAPP, por um período de 60 dias, em embalagens de PET e polietileno trançado, se encontram na Tabela 4.22, na qual se observa efeito altamente significativo para todas as variáveis e suas interações duplas.

De acordo com as análises realizadas, os fungos que se desenvolveram sobre as sementes de amendoim irradiadas pertencem ao gênero *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus* e *Penicillium*.

Tabela 4.22. Análise de variância da incidência de fungos nas sementes de amendoim variedade BRI irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado durante 60 dias em embalagem de PET e polietileno trançado

Fonte de Variação	GL	Fungos			
		<i>A. flavus</i>	<i>A. niger</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Penicillium</i>
		QM	QM	QM	QM
Dose (D)	7	20305,65**	7365,40**	2788,98**	3564,80**
Embalagem (E)	1	8802,08**	275,52**	1633,33**	638,02**
Tempo (T)	2	12084,89**	520,31**	314,06**	5753,64**
D x E	7	731,84**	151,71**	2358,33**	190,40**
D x T	14	688,46**	159,59**	1241,44**	1030,43**
Resíduo	144	25,34	6,07	14,58	8,15
CV (%)		13,38	22,22	17,21	26,24

**Significativo a nível de 1%

Observa-se, mediante os dados contidos na Tabela 4.23 para a interação D x E, que a porcentagem de incidência do *A. flavus* nas sementes diminui com o aumento da dose de irradiação.

Tabela 4.23. Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação D x E em sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias

Doses (KGy)	Embalagem							
	<i>A. flavus</i>		<i>A. niger</i>		<i>Rhizopus</i>		<i>Penicillium</i>	
	PET	PeT	PET	PeT	PET	PeT	PET	PeT
0,0	85,83aA	87,50aA	33,33aB	46,67aA	45,83aA	35,00aB	30,83aB	46,67aA
0,50	65,00bB	82,50aA	34,17aB	40,83bA	38,33bA	6,67deB	10,00bA	10,83cA
1,00	30,83cA	31,67cA	11,67bA	10,83cA	45,00aA	18,33cB	10,00bB	15,83bA
1,50	22,50dB	53,33bA	0,00cA	0,00dA	10,00eB	21,67bcA	10,00bA	8,33cA
2,00	22,50dB	50,00bA	0,00cA	0,00dA	20,00dB	33,33aA	7,50bcB	10,00cA
2,50	16,67dB	25,83cA	0,00cA	0,00dA	13,33eB	25,00bA	4,17cB	10,00cA
3,00	3,33eB	15,00dA	0,00cA	0,00dA	28,33cA	3,33eB	0,00dA	0,00dA
4,00	0,00eB	9,17dA	0,00cA	0,00dA	0,00fB	10,83dA	0,00dA	0,00dA
DMS (C)	6,31		3,09		4,78		3,58	
DMS (L)	4,06		1,98		3,08		2,30	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Umidade Inicial = 8,01%, microflora inicial = 55% *A. flavus*, 36,67% *A. niger* e 36,67% *Rhizopus*. PeT Polietileno Trançado

Para a incidência de *A. flavus* em ambas embalagens, observa-se redução da incidência a medida em que se eleva a dose da irradiação, com controle total (100%) para a embalagem de PET na dose de 4,00 kGy e de 78,33% para o armazenamento em embalagem de polietileno trançado. É de registro para esta embalagem à exceção das doses de 1,00 e 2,50 kGy, que a redução se deu gradualmente com o aumento das doses, como ocorreu com todas as doses na embalagem de PET.

Examinando o efeito das embalagens para o *A. flavus* utilizadas na conservação das sementes de amendoim ao longo do armazenamento, tem-se claramente que a embalagem de PET superou, em termos de valores absolutos a embalagem de polietileno trançado em todas as doses.

A contaminação por *A. niger* diminuiu em ambas as embalagens até a dose de 1,00 kGy, a partir da qual teve controle total (0,0%), com igualdade estatística entre as embalagens na dose de 1 kGy e dentro da embalagem PET na dose 0,0 e 0,50 kGy, com superioridade para PET.

O *Rhizopus* indicou comportamento diferente dos fungos anteriormente analisados (*A. flavus* e *A. niger*), quanto à uniformidade de controle em decorrência das doses, uma vez que na embalagem de PET para as doses de 1,00 e 3,00 kGy houve aumento da incidência de fungos com relação às doses anteriores. Entre as embalagens há comportamento uniforme para as doses de 0,0 a 1,00 kGy, em que a embalagem de polietileno trançado foi melhor no controle deste fungo que a de PET, ocorrendo o inverso para as doses de 1,50 a 2,50 kGy, tendo, para a maior dose, controle absoluto do *Rhizopus* com a embalagem de PET. Comportamento similar teve o *Penicillium*, em relação aos fungos *A. flavus* e *A. niger*, isto é, a contaminação diminuiu com o aumento das doses em ambas as embalagens, à exceção de dose de 1,00 kGy na embalagem de polietileno trançado, com controle total a partir da dose de 3,00 kGy.

Entre as embalagens para as doses de 2,00 e 2,50 kGy ocorreu menor incidência de *Penicillium* na embalagem de PET, não havendo diferença estatística entre essas embalagens para as doses de 0,50 e 1,50 kGy.

Tais irregularidades, dentro e entre as embalagens, se devem, provavelmente, à competição entre os fungos por substrato e espaço, em que o *A. flavus* e o *A. niger* são mais agressivos que o *Rhizopus* e o *Penicillium*. Em parte, esses resultados encontram apoio na pesquisa de Nakai (2006) que trabalhou com distribuição de fungos e

aflatoxinas em variedade de amendoim armazenado, verificando que a influência mútua entre os fungos pode ocorrer de modo antagônico.

Santos (2008), trabalhando com o efeito do desenvolvimento dos fungos em amendoim irradiado com cobalto 60 (^{60}Co) nas doses de 0, 0,50, 1,00, 1,50, 2,00, 2,50, 3,00, 6,00, 9,00, 12,00 15,00 18,00, 21,00, 24,00 KGy, concluiu que, com o aumento das doses de irradiação, diminuiu significativamente o percentual de fungos nas sementes e destacou, ainda as doses de 2,00 KGy como efetivas para os fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*, os quais foram eliminados nesta dose.

A radiação gama tem sido utilizada por alguns pesquisadores no controle de micro-organismos, em que a influência da dose de irradiação para eliminar a microbiótica fúngica foi estudada por Santos (2008) em amendoim, e Fanaro et al. (2004) em sementes de girassol.

Os dados da interação D x T da incidência de fungos nas sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co acondicionadas em embalagem de PET e polietileno trançado se encontram nas Figuras 4.2 a 4.5 e nas tabelas no apêndice.

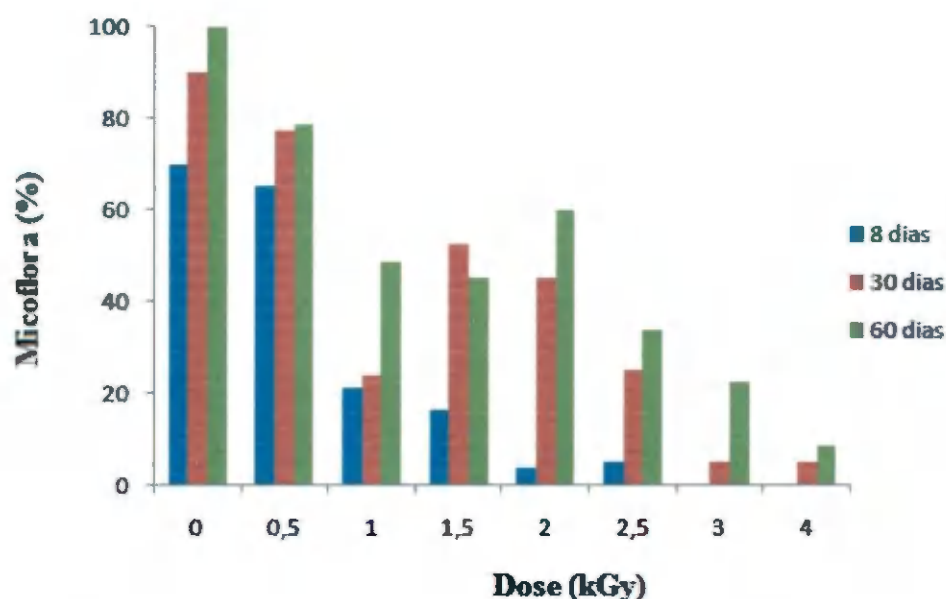


Figura 4.2. Representação gráfica da porcentagem de *A. flavus* para as diferentes doses de irradiação gama e tempo de armazenamento

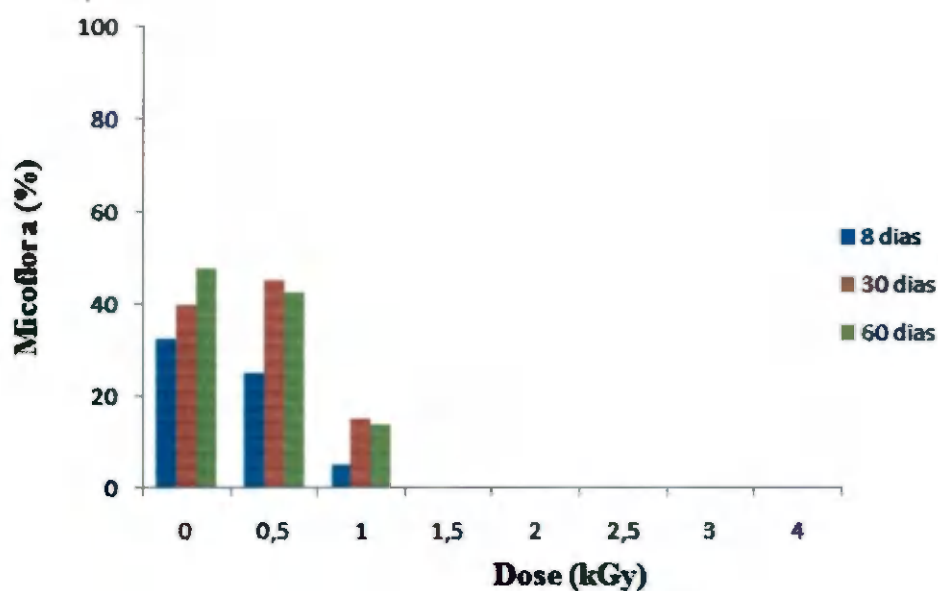


Figura 4.3. Representação gráfica da porcentagem de *A. niger* para as diferentes doses de irradiação gama e tempo de armazenamento

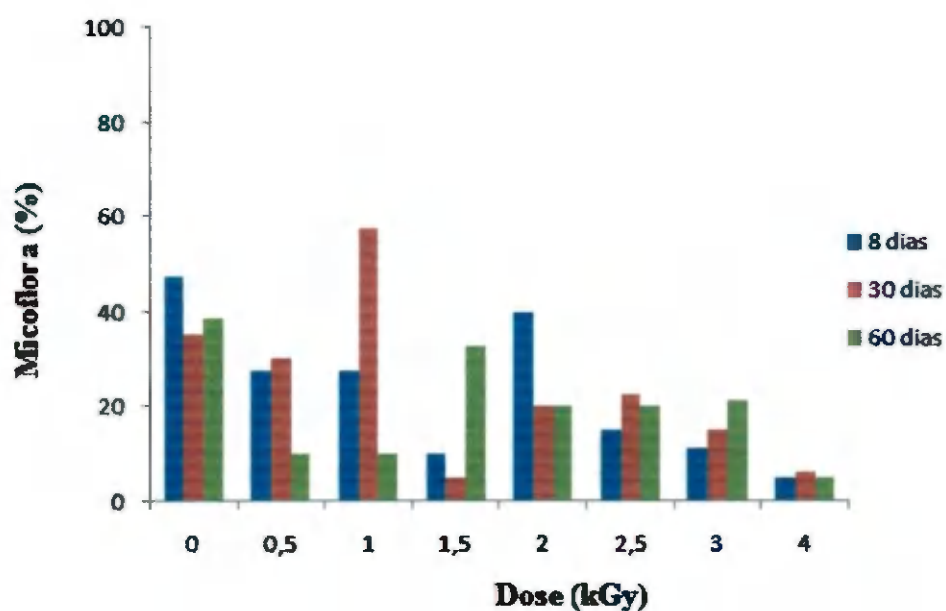


Figura 4.4. Representação gráfica da porcentagem de *Rhisopus* para as diferentes doses de irradiação gama e tempo de armazenamento

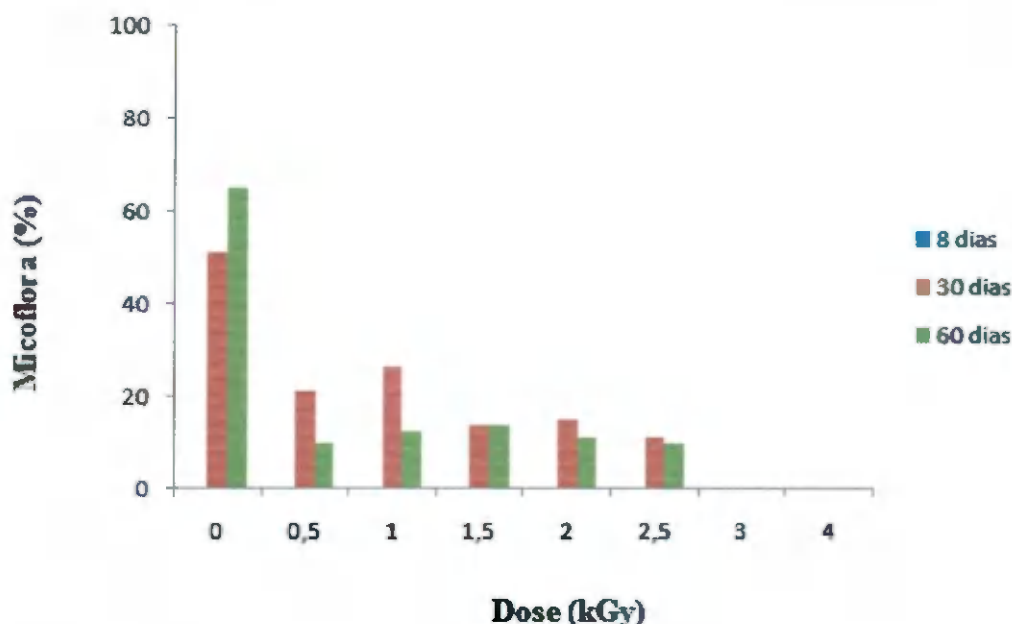


Figura 4.5. Representação gráfica da porcentagem de *Penicillium* para as diferentes doses de irradiação gama e tempo de armazenamento

Observando-se a representação gráfica (Figura 4.2) para o *A. flavus*, tem-se o efeito de tempo dentro de cada dose, no sentido de que à medida que o tempo de armazenamento avança, ocorre uma incidência maior deste fungo, exceto para a dose de 1,50 kGy no tempo de 30 dias e que, conforme os resultados apresentados anteriormente para a interação D x E, à medida em que a dose aumenta, ocorre uma redução contínua do fungo; comportamento similar se observa para o *A. niger* na dose de 0,50 e 1,00 kGy o que vem a confirmar os resultados da interação D x E.

Ainda em análise aos dados representados graficamente, tem-se um percentual de 65% de contaminação no início da armazenagem para as sementes irradiadas com a dose 0,50 kGy o qual foi elevado para 78,75% depois do período de armazenamento e, para a dose de 4,00 kGy que inicialmente, foi de 0,0%, este se elevou para 8,75% ao final do armazenamento; este comportamento indica que o efeito da irradiação diminui com o tempo de armazenamento sugerindo maiores estudos com relação ao tempo, para confirmação da microbiota fúngica.

Observa-se também que, antes da armazenagem, as sementes de amendoim apresentaram incidência de 70% de *A. flavus* e, depois do período de armazenamento (60 dias) a testemunha estava totalmente contaminada (100%).

Prado et al. (2006), analisando o efeito da irradiação gama (^{60}Co) na frequência fúngica de amendoim in natura em função do tempo de prateleira, observaram que a irradiação gama (^{60}Co) na dose de 5,0 kGy é capaz de reduzir a porcentagem fúngica de amendoim em grão, após 20, 60 e 180 dias, a temperatura ambiente.

Para o *A. niger*, observa-se que da dose 0,0 para 1,00 kGy ocorreu um aumento no percentual de incidência deste fungo com o tempo de armazenamento; já a partir da dose de 1,50 kGy houve controle total deste fungo. Com relação ao fungo *Rhizopus*, verifica-se diminuição nas sementes não irradiadas nos períodos analisados e ausência no início do armazenamento para o *Penicillium* e controle total deste fungo nas doses de 3,00 e 4,00 kGy para as embalagens de PET e polietileno trançado.

4.3.1. Germinação das sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co

Os resumos das análises de variância correspondente à germinação das sementes de amendoim armazenadas em ambiente não controlado do LAPPA pelo tempo de 60 dias, em embalagens de PET e polietileno trançado e irradiadas com ^{60}Co se encontram na Tabela 4.24, em que se observa efeito altamente significativo para todas as variáveis e suas interações duplas.

Tabela 4.24. Análise de variância da germinação de sementes de amendoim variedade BR1 irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias

Fonte de Variação	GL	QM
Dose (D)	7	6974,25**
Embalagem (E)	1	1716,02**
Tempo (T)	2	5416,28**
D x E	7	186,59**
D x T	14	167,88**
Resíduo	144	0,42

** significativo a 1% de probabilidade

Os resultados apresentados na Tabela 4.25 e Figuras 4.6 e 4.7, evidenciam os efeitos das doses de irradiação gama sobre a germinação das sementes de amendoim, indicando o efeito prejudicial no sentido de que a germinação reduz com o aumento da aplicação da dose de irradiação.

Tabela 4.25. Valores médios da germinação (%) para a interação D x E em sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias

Doses (kGy)	Embalagens	
	PET	Polietileno Trançado
0,00	61,67 bA	60,58 aB
0,50	66,33 aA	54,41 bB
1,00	49,25 cB	52,25 cA
1,50	47,91 dA	33,50 dB
2,00	35,83 eA	31,83 eB
2,50	32,67 fA	26,25 fB
3,00	26,33 gA	18,83 gB
4,00	18,08 hA	12,58 hB
CV (%)	1,66	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna (DMS = 0,82) e maiúscula na linha (DMS = 0,52) não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey de 5% de probabilidade; Germinação inicial = 76%; Umidade inicial = 8,01%

De acordo com os resultados tem-se, para as sementes não irradiadas, germinação de 61,67 e 60,58%, respectivamente, para o armazenamento em PET e

polietileno trançado, e que a perda da germinação aumenta com o aumento da dose de irradiação, à exceção da dose de 0,50 kGy, para a embalagem de PET. Observa-se, também, que tanto a embalagem de PET quanto a embalagem de polietileno trançado se comportaram similarmente com o aumento das doses de irradiação, isto é, a germinação diminui à medida que estas foram aumentadas. Constata-se, também, forte redução da germinação a partir da dose de 2,50 kGy, tanto em embalagem de PET como em embalagem de polietileno trançado com diminuição da germinação em 47,02, 57,30 e 70,68% e de 56,67, 68,92, 79,23% para as doses de 2,50, 3,00 e 4,00 kGy nas embalagens de PET e polietileno trançado, respectivamente.

O estudo das equações polinomiais revelou efeito significativo e R^2 acima de 98% para equação de primeiro grau, indicando que esta pode ser utilizada para representar o comportamento da germinação de sementes irradiadas neste trabalho (Figura 4.6 e 4.7). Referidas equações representam estatisticamente o comportamento das sementes irradiadas e acondicionadas em embalagem de PET e polietileno trançado e são importantes por estimarem os pontos intermediários entre os valores obtidos experimentalmente com os relativos às doses de 0,0 a 4,00 kGy. Estudo sobre o tema revela que baixas doses de radiação apresentam a capacidade de estimular os biosistemas, invertendo o efeito com o aumento da dose (Lukey, 1980), o que pode explicar o resultado do aumento da germinação ocorrido na embalagem de PET para a irradiação de 0,50 kGy; entretanto, esta teoria, denominada Hormese, ainda não é muito compreendida e justificada.

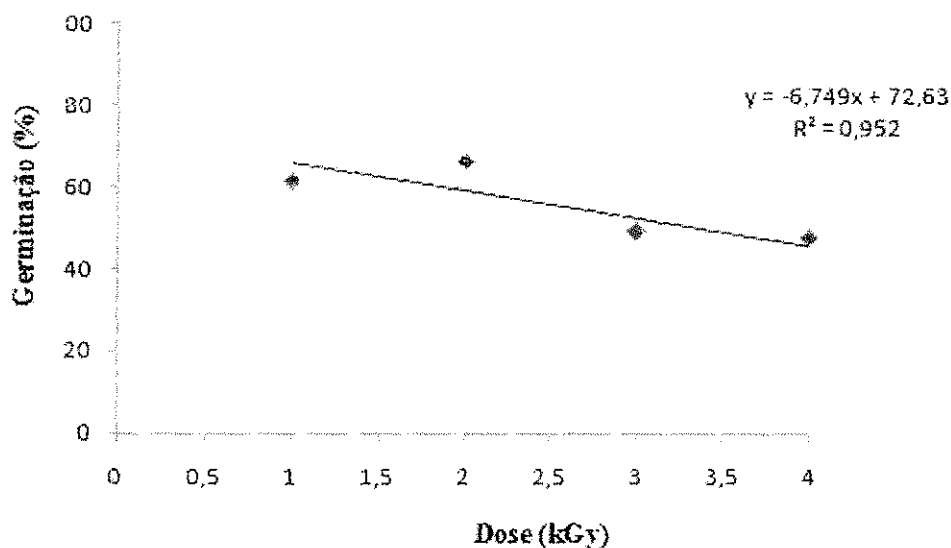


Figura 4.6. Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes irradiadas e armazenadas em embalagem de PET, por 60 dias

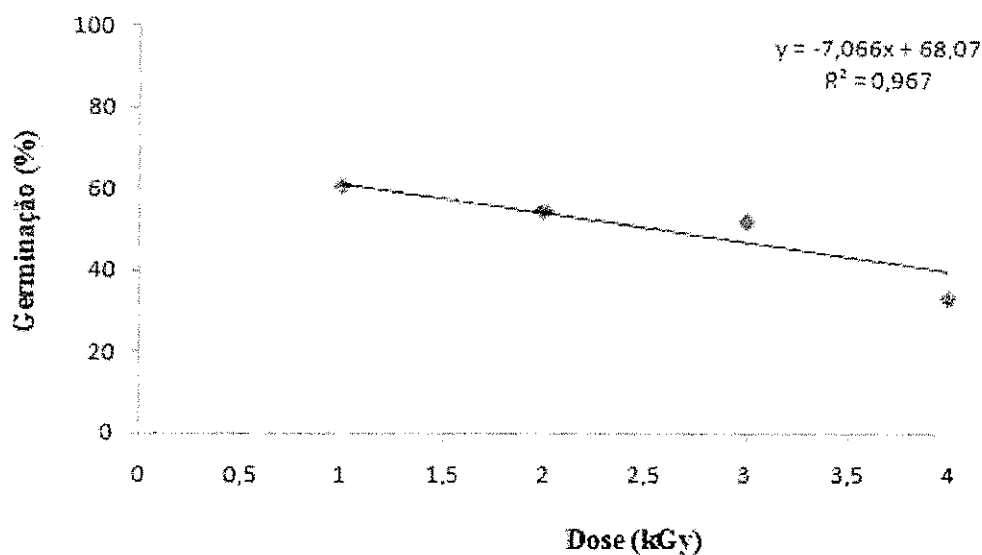


Figura 4.7. Representação gráfica da porcentagem de germinação das sementes irradiadas e armazenadas em embalagem de polietileno trançado, por 60 dias

Fanaro et al. (2004), realizando teste em sementes de girassol irradiadas, concluíram que as amostras irradiadas com a dose de 0,50 kGy apresentaram o percentual de germinação muito similar com as sementes não irradiadas (testemunha), diferindo das outras, que tiveram o percentual inferior ao da testemunha.

Santos (2008) em estudo de viabilidade submeteu sementes de amendoim, variedade Havana, a várias doses de irradiação e, em seguida, analisou a sua micoflora, tendo concluído que: o tratamento com radiação gama afetou negativamente o vigor e a germinação das sementes de amendoim; as doses de 0,50 e 1,50 kGy resultaram em perda de germinação e vigor acima de 50%; a dose de 3,00 kGy inviabiliza a utilização das sementes para o plantio, e doses acima de 12,0 kGy comprometem totalmente o vigor e a germinação das sementes.

Melo et al. (2006), observaram que a irradiação na faixa de 0,12 a 0,36 kGy não afetou a germinação das sementes de arroz, até 14 dias depois da semeadura.

Verifica-se, no presente trabalho uma forte redução da germinação das sementes irradiadas a partir da dose de 3,00 kGy em que a porcentagem da germinação caiu em 35,34% em relação à dose de 0 kGy (testemunha) para a embalagem de PET e a partir da dose de 2,50 kGy, para a embalagem de polietileno trançado.

Justo & Bobrowski (2007), avaliando os efeitos da radiação gama sobre as sementes de mamona, concluíram que as sementes irradiadas com 0,10 e 0,20 kGy apresentaram germinação mais lenta quando comparadas com a testemunha e as doses de 0,30, 0,40 e 0,50 kGy causaram inibição total da germinação.

Com relação ao armazenamento das sementes irradiadas ou não com ^{60}Co e armazenadas em dois tipos de embalagens, verifica-se que a embalagem de PET proporcionou os melhores resultados frente à embalagem de polietileno trançado.

Mediante os resultados relativos às doses de ^{60}Co aplicadas nas sementes de amendoim, em todos os períodos de armazenamento (Tabela 4.26), observa-se diferença na germinação devido ao efeito das mesmas com redução da germinação a medida em que se elevam as doses de irradiação.

Tabela 4.26. Valores médios da germinação (%) para a interação D x T em sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias

Doses (kGy)	Tempo (dias)		
	8	30	60
0,00	76,00 aA	58,00 bB	49,37 bC
0,50	68,50 bA	62,12 aB	50,50 aC
1,00	66,00 cA	46,75 cB	39,50 cC
1,50	44,00 eA	43,00 dB	35,12 dC
2,00	47,50 dA	32,12 eB	21,87 eC
2,50	40,62 fA	30,37 fB	17,37 fC
3,00	26,50 gA	23,00 gB	18,25 fC
4,00	19,87 hA	16,25 hB	9,87 gC
CV (%)	1,66		

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna (DMS=1,00) e maiúscula na linha (DMS= 0,77) não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; Germinação inicial = 76%, Umidade inicial = 8,01%

Os dados evidenciam com clareza que, à exceção do tempo de 8 dias, a viabilidade das sementes de amendoim reduziu estatisticamente dentro de cada tempo e entre os tempos a medida que se aumentou as doses de irradiação e o tempo de armazenamento, comportamento que respalda os resultados encontrados por Ascheri et al. (2005) avaliando a qualidade fisiológica de sementes de soja irradiadas por raios X

e armazenadas, em que as sementes de soja irradiadas tiveram sua qualidade fisiológica reduzida no decorrer do período de armazenamento, com perdas significativas em virtude do aumento da dosagem de raios X.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, estabeleceram-se as seguintes conclusões:

Cultivar BRS Havana

- Os fungos detectados nas amostras de amendoim vindos do campo e durante a armazenagem das sementes não inoculadas e inoculadas, foram: *A. flavus*, *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium*, com predominância do *Aspergillus flavus*.
- A ocorrência do *A. niger*, *Rhizopus* diminuiu com a predominância do *A. flavus*, e o *Penicillium* eliminado no procedimento inoculado.
- As sementes de amendoim da cultivar BRS Havana não inoculadas com *A. flavus* e tratadas com extrato de nim na dose de 70 mL, não foram contaminadas com aflatoxina, assim como as sementes inoculadas com *A. flavus* tratadas com extrato de nim, na dose de 100 mL.
- A presença de aflatoxina acima da permitida pela legislação brasileira para comercialização do amendoim ($20 \mu\text{g kg}^{-1}$) se deu com as sementes inoculadas com *A. flavus* tratadas com extrato de nim na dose de 70 mL.
- Os valores obtidos na recuperação da aflatoxina foram de 87,67 a 109,57%, respectivamente, para as sementes inoculadas e não inoculadas com *A. flavus* e seus CV (Coeficiente de Variação) de 3,69 a 6,67% respectivamente.

Cultivar BR1

- A dose de 100 mL dos extratos foi a mais eficaz no controle do *A. flavus* durante o armazenamento das sementes de amendoim BR1 nas embalagens de PET e polietileno trançado.
- O extrato de pimenta-do-reino controlou o *A. flavus* em percentuais maiores que o extrato de nim, em ambas as embalagens estudadas (PET e polietileno trançado).

- O extrato de nim promoveu maior controle para os fungos *A. niger*, *Rhizopus* e *Penicillium* durante o armazenamento, nas sementes inoculadas.
- A porcentagem de *A. niger* foi reduzida ao longo do armazenamento nas sementes tratadas com o extrato de nim e armazenadas em embalagem de PET e polietileno trançado.
- As sementes tratadas com o extrato de nim apresentaram os menores percentuais de germinação que as tratadas com o extrato de pimenta-do-reino.
- A dose mais eficiente do extrato de pimenta-do-reino foi a de 100 mL com germinação superior às demais doses.

Sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co

- Há redução da incidência da micoflora a medida em que se eleva a dose da irradiação, com controle total (100%) para a embalagem de PET na dose de 4,0 kGy e de 78,33% para o armazenamento em embalagem de polietileno trançado.
- Existe diferença de comportamento do fungo *A. flavus* nas sementes acondicionadas em embalagem de PET e polietileno trançado, tendo a de PET melhor controle.
- O fungo *Aspergillus niger* foi eliminado a partir da dose 1,5 kGy e o *Penicillium* a partir da dose de 2,5 kGy.
- O tratamento com radiação gama afetou negativamente a germinação das sementes de amendoim.
- A dose de 0,5 kGy foi efetiva na germinação das sementes de amendoim, sendo superior à testemunha no período de 30 e 60 dias.
- Doses acima de 3,0 kGy comprometem a germinação das sementes.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, A.L.B.; Almeida, F.A.C.; Gomes, J.P.; Costa, R.S.; Alburquerque, E.M.B. Avaliação da aflatoxina em sementes de amendoim. In: Encontro de Iniciação Científica, 3, 2007, Campina Grande, PB, Resumos... Campina Grande, UFCG, 2007.
- Almeida, F.A.C. Avaliação de sementes nas propriedades rurais. In: Almeida, F. de A.C.; Matos, V.P.; Castro, J.R.; Dutra, A.D. Armazenamento de grãos e sementes nas propriedades rurais. Campina Grande: UFPB/SBEA, 1997. Cap. 3, p.134-177.
- Almeida, F.A.C.; Moraes, J.S.; Santos, R.C.; Araújo, E. Influência da embalagem e do ambiente de armazenamento na qualidade sanitária de sementes de amendoim. Revista de Oleaginosas e Fibrosas, Campina Grande, v.2, n.2, p.97-102, 1998.
- Almeida, F. A. C.; Duarte, M.E.M.; Cavalcanti-Mata, M.E.R. Teor de água na semente e sua relação com a tecnologia do armazenamento. In: Almeida, F.A.C.; Duarte, M.E.M.; Cavalcanti-Mata, M.E.R.C. (eds.) Tecnologia de armazenagem em sementes. 1 ed. Campina Grande, PB: UFCG, 2006, v.1, p.147-188.
- Almeida, S.A. Extratos vegetais no controle ao *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) e seus efeitos na conservação do feijão *Vigna unguiculata* (L. Walp.) Campina Grande: UFCG, 2003. 80 f. Dissertação Mestrado
- Amaral, K.A.S.; Machinski Junior, M. Métodos analíticos para a determinação de aflatoxinas em milho e seus derivados: uma revisão. Revista Analytica, São Paulo, n.24, 2006.
- Amaral, K.A.S.; Nascimento, G.B.; Sekiyama, B.L.; Janeiro V.; Machinski JR, M. Aflatoxina em produtos a base de milho comercializados no Brasil e risco para a saúde humana. Revista Ciências Tecnologia dos Alimentos, Campinas, v.26, n.2, p.336-342, 2006.

- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Natural Toxins. In: Official Methods of Analysis, Arlington, 2005. p.3-5.
- Araújo, G.A. Culturas temporárias: cana, algodão, fumo, mandioca, feijão e outros cereais. 1 ed. Rio de Janeiro: Ediouro do Campo, 1986.
- Arroteia, C.C.; Kimmelmeier, C; Machinski Junior, M. Efeito dos extratos aquoso e oleoso de Nim [*Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae)] na produção de patulina em maçãs contaminadas por *Penicillium expansum*. Revista Ciência Rural, Santa Maria, v.37, n.6, p.1518-1523, 2007.
- Ascheri, D.P.R.; Oliveira Neto, M.C.; Devilla, I.A. Qualidade fisiológica de sementes de soja irradiadas por raios x e armazenadas. Revista Brasileira de Armazenamento, Vçosa, v.30, n.2, p.192-197, 2005.
- Athié, I.; Castro, M.F.P.M.; Gomes, R.A.R.; Valentini, S.R.T. Conservação de grãos. Campinas: Fundação Cargill. 236p, 1998.
- Baldiga, R.F.; Lucca Filho, O.; Pascuali, L.C. Tratamento de sementes de feijão-miúdo (*Vigna unguiculata*) com extratos vegetais para o controle fúngico In: Congresso de Iniciação Científica e V Encontro de Pós-graduação, 12, 2003, Pelotas, Resumos... Pelotas. 2003. CD-ROM.
- Banks, D.J. Peanuts germoplasm resources. Crop Science, v.16, p.499-502, 1976.
- Barreto, M.S.R., Uso de extratos vegetais como promotores do crescimento em frangos de corte. Piracicaba: ESALQ, 2007. 80 f. Dissertação Mestrado
- Barreto, A.F.; Araújo, E.; Beltrão, N.E.M., Dionizio, 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, Resumos.... 2003. CD-ROM.

Boff, M.I.C.; Almeida, A.A. de. Atividade inseticida de extratos de pimenta-do-reino, *Piper nigrum* (Piperaceae) sobre a progênie da traça-dos-cereais, *Sitotroga cerealella* (Lepidóptera: Gelechiidae). Revista Brasileira de Armazenamento, Viçosa, v.30, n.2, p.111-116, 2005.

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

Bullerman, L.B.; Schroeder, L.L.; Park, K.Y. Formation and control of mycotoxins in food. Journal Food, v.47, n.8, p.637-645, 1984.

Caldas, E.D.; Silva, S.C.; Oliveira, J.N. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. Revista Saúde Pública, São Paulo, v.36, n.3, p.319-323, 2002.

Camargo, F.R. Tratamentos alternativos na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de espécies florestas. Santa Maria: UFSM, 2007. 75 f. Dissertação Mestrado

Carvalho, N.M.; Nakagawa, J. Sementes: ciências, tecnologia e produção. 3 ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 274p.

Carvalho, N.M. A secagem de sementes. Jaboticabal: FUMEP, 1994. 165p.

Christensen, C.M.; Kaufmann, H.H. Deterioration of store grains by fungi. In: HORSFALL, J.G.; BAKER, K.F. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, v.3, p.69-84, 1965.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Amendoim: Perspectivas para a safra 2005/2006 E 2006/2007. Brasília 2008. <[HTTP://www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br)> 19 de Set. de 2008.

Corrêa, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, v.4, 1984. 172p.

- Costa, R.S. Avaliação da aflatoxina em sementes de amendoim armazenadas e do óleo de nim no crescimento micelial de *Aspergillus flavus*. Campina Grande: UFCG, 2007. 67 f. Dissertação Mestrado
- Custódio, C.C.; Marcos Filho, J. Potassium leachate test for the evaluation of soybean seed physiological quality. *Seed Science & Technology*, v.25, p.549-564. 1997.
- Dhingra, O.D. Prejuízos causados por micro-organismos durante o armazenamento de sementes. *Revista Brasileira de Sementes, Pelotas*, v.7, n1, p.139-145, 1985.
- Dhingra, O.D.; Coelho Netto, R.A. . Micotoxinas em grãos. *Revisão Anual de Patologia de Plantas: Viçosa*, v.6, p.51-101, 1998. /
- Diener, U.H. Davis, N.D. Aflatoxin production by isolates os *Aspergillus flavus*. *Journal Phytopathology*, v.56, p.1390-1393, 1966.
- Diniz, E.; Silva., C.L.; Muniz, M.B.; Queiroga, V.P.; Bruno, R.L.A. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) Armazenadas. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande*, v.3, n.1, p.61-72, 2001.
- Ellis, R.H. The longevit of seeds. *HortScience, Brasília*, v.26, n.9, p.1119-1125, 1991.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Amendoim BRI intercalar no Marajó. Comunicado Técnico, Belém, 2004.
- Fanaro, G.B.; Baldasso, J.G.; Crede, R.G.; Claudio T.B.; Sabundjian, I.T.; Guedes, R.L.; Villavicencio, A.L.C.H. Teste de germinação em sementes de girassol (*Helianthus annus* L.) irradiadas. *Resumos... Instituto Biológico, São Paulo*, v.71, p.1-174, 2004.

- Farias, A.X. Contaminação endógena por *Apergillus* spp. em milho pos-colheita no estado da Paraíba. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.35, n.3, p.617-621, 2000.
- Fioreze, R. Princípios de secagem de produtos biológicos. João Pessoa: Editora Universitária: UFPB, 2004. 229p.
- Fonseca, H. Legislação sobre micotoxinas. 2006. <<http://www.micotoxinas.com.br>> 10 de Out. de 2007.
- Fonseca, H. Preservação e controle de micotoxinas em produtos agrícolas, 2005. Boletim técnico n.7. <<http://www.micotoxinas.com.br>> 03 de Out. de 2007.
- Freitas, S.M. de; Martins, S.S.; Nomi, A.K.; Campos, A.F. Evolução do mercado brasileiro do amendoim. In: SANTOS R.C. dos (Ed.). O agronegócio do amendoim. Campina Grande: EMBRAPA ALGODÃO, 2005. Cap. 1. p.15-44.
- Garcia, J.; Kamada, T.; Jacobson, T.K.B.; Curado, M.A.; Oliveira, S.M. Superação de dormência em sementes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). Revista Agropecuária Tropical, Uberaba, v.30, n.2, p.51-54, 2000.
- Gonçalves, E.; Pinto, M.M.; Felício, J.D. Análise de micotoxinas no Instituto Biológico de 1989 a 1999. Divulgação Técnica, Biologia, São Paulo, v.63, n.1/2, p.15-19, 2001.
- 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, Porto Alegre, v.9, n.1, p.23-29, 2003.
- Gurjão, K.C.O. Qualidade fisiológica nutricional e sanitária de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) produzidas no semi-árido nordestino. Campina Grande: UFPB, 1995. 85f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola).
- Hammons, R.O. Registration of spaneros peanuts. Crop Science, v.10, p.459. 1970.

- IAC - Instituto Agrônômico. 2003. <<http://www.iac.sp.gov.br/>> 05 de Jun. de 2007.
- ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods – Micro-organismos de los alimentos: características de los patógenos microbianos. Zaragoza. 1996.
- Jerônimo, E.S. Crioarmazenagem de sementes de 5 espécies de oleaginosas de interesse econômico no nordeste brasileiro. Campina Grande: UFCG, 2004. 57f. Dissertação Mestrado.
- Justo, P.S.; Bobrowski, V.L. Avaliação dos efeitos da radiação gama sobre sementes de mamona (*Ricinus communis* L.). In: Congresso de Iniciação Científica, 2007, Pelotas. Resumos... Pelotas: FAEM, 2007. CD-ROM.
- Kawashima, L.M.; Valente Soares, L.M. Incidência de fumonisina B1, aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, ocratoxina a e zearalenona em produtos de milho. Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.26, n.3, p.516-521, 2006.
- Kubena, L.F.; Edrington, T.S.; Kamps-Holtzapple, S.L.; Harvey, R.B.; ELISSALDE, M.H.; Rottinghaus, G.E. Effects of feeding fumonisin B1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and aflatoxin singly and in combination to turkey poults. Poultry Science, Raleigh, v.74, p.1295– 303, 1995.
- Kwiatkows, A.; Alves, A.P.F. Importância da detecção e do controle de aflatoxinas em alimentos. Revista Saúde e Biologia, Campo Mourão, v.2, n.2, p.44-53, 2007.
- Lillehoj, E.B.; Kwolek, W.F.; Guthrie, W.D.; Barry, D.; Mcmillian, W.W.; Widstrom, N.W. Aflatoxin accumulation in preharvest maize (*Zea mays* L.) kernels, interactions of 3 fungal species European corn borer *Ostrinia nubilis* and 2 hybrids. Plant Soil, v.65, p.95-102, 1982.
- Lima, E.F.; Araújo, A.E. Fungos causadores de tombamento, transportados e transmitidos através da semente do amendoim. Revista Oleaginosas e Fibras. Campina Grande, v.3, n.2, p.71-76, 1999.

- Lukey, T.D. Hormesis with ionizing radiation. Flórida: CRC Press, 1980.
- Macedo, M.H.G. Amendoim. 2004. Disponível em: Conjunturas agropecuárias <www.conab.gov.br> 04 de jul. de 2007.
- Mapa - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução – RCD nº 274, de 15 de outubro de 2002. 2006. <<http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=1653&word=aflatoxina>> 15 de jul. de 2007.
- Marques, P.M.; Monteiro, C.M.; Pereira, G.T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meio contendo diferentes concentrações de óleo de Nim (*Azadirachta indica*). Revista Ciência Rural, Santa Maria, v.34, n.6, p.1675-1680, 2004.
- Maciel, E.R.; Machinski, M.; Pereira, S.R.C.; Takahachi, G.; Kimmelmeier, C.; Nichiyama, P. Incidence of aflatoxins and *Aspergillus flavus* em peanuts consumed in Maringá city, Brasil. Arquivos de Biologia e Tecnologia, Curitiba, v.39, n.4, p.807-813, 1996.
- Medeiros, D.C.; Andrade Neto, R.C.; Figueira L.K.; Nery, D.K.P.; Maracajá, P.B. Pó de folhas secas e verdes de nim sobre a qualidade das sementes de feijão caupi. Revista Caatinga, Mossoró, v.20, n.2, p.94-99, 2007.
- Melo, P.C.S.; Colaço, W.; Anúciação Filho, C.J.; Santos, V.F. Sensibilidade de variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) à radiação gama e à salinidade: um estudo preliminar no estágio de germinação. In: Reunião Nacional de Pesquisa de Arroz e II Congresso Brasileiro da Cadeia Produtiva de Arroz, 8, 2006, Brasília. Resumos... Brasília, 2006. CD-ROM.
- Morais, J.S.; Almeida, F.A.C.; Santos, R.C.; Almeida, R.P. Ocorrência de pragas em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) acondicionadas em três tipos de embalagens em duas microregiões do Estado da Paraíba. In: Congresso Brasileiro de

- Engenharia Agrícola, 26, 1997, Campina Grande. Resumos... Campina Grande: SBEA, 1997. CD-ROM.
- Morais, S.A.; Mariotto, P.R. Diagnostico da patologia de sementes de amendoim no Brasil. Revista Brasileira de Sementes, Pelotas, v.7, n.1, p.41-44, 1985.
- Moretto, E.; Fett, R. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos. 1ed. São Paulo: Varela Editora e Livraria LTDA, 1998. 151p.
- Moss, M.O. Mycotoxins of *Aspergillus* and others filamentous fungi. Journal of Applied Bacteriology, n.Supplement, p.69-81, 1989.
- Mossini, S.A.G. Efeitos de extratos de *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) na produção de micotoxinas e na morfologia de fungos toxigênicos Maringá: UEM. 2006. 49f. Tese Doutorado.
- Mossini, S.A.G; Kimmelmeier. C. A árvore nim (*Azadirachta indica* A. Juss): múltiplos usos. Revista Acta Farmacéutica Bonaerense, Buenos Aires, v 24, n.1, 2005.
- Mossini, S.A.G.; Kimmelmeier. C. Inhibition of patulin production by *Penicillium expansum* cultured with Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Extracts. Journal of Basic Microbiology, v.44, p.106 -113, 2004.
- Nakai, V.K. Distribuição de fungos e aflatoxinas em variedade de amendoim armazenado. São Paulo: USP. 2006. 133 f. Dissertação Mestrado.
- Neergaard, P. Seed pathology. London: Mac Millan, v.2, 1979.
- 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, Campina Grande, 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. dos (Ed.). O agronegócio do amendoim. Campina Grande: EMBRAPA ALGODÃO, 2005. Cap. 3. p.73-121.
- Oliveira, J.A.; Vieira, M.G.G.C.; Pinho, E.V.R.; Carvalho, M.L.M. Comportamento de sementes de milho tratadas com fungicidas antes e após o armazenamento convencional. *Revista Brasileira de Sementes*, Pelotas, v.19, n.2, p.207-212, 1997.
- Pereira, M.M.G.; Carvalho, E.P.; Prado, G. Crescimento e produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. *Boletim CEPPA*, Paraná, v.20, n.1, p.141-156. 2002.
- Pissinate, K. Atividade citotóxica de *Piper nigrum* e *Sthruthanthusmarginatus*. Estudo preliminar da correlação entre citotoxicidade e hidrofobicidade da piperina e derivados sintéticos. Rio de Janeiro: UFR. 110 f. Dissertação Mestrado.
- Piveta, G.; Mieth, A.T.; Pacheco, C.; Hamann, F.A.; Rodrigues, J.; Muniz, M.FB.; Blume, E. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de angico-vermelho após aplicação de extratos vegetais. *Revista Brasileira de Agroecologia*, Porto Alegre, v.2, n.2, 2007.
- 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. *Revista Química Nova*, São Paulo, v.31, n.3, p.514-517, 2008.
- Prado, G. Influência da irradiação gama (^{60}Co) na microbiota fúngica e na aflatoxina B₁ em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Minas Gerais: UFV, 2005. 200f. Tese Doutorado.
- Prado, G.; Carvalho, E.P.; Madeira, J.E.G. C.; Morais, V.A.D.; Oliveira, R.F.C.; Cardoso, V.N. Efeito da irradiação Gama (^{60}Co) na frequência fúngica de amendoim

- in natura em função do tempo de prateleira. *Revista Ciências Agrotécnica, Lavras*, v.30, n.5, p.930-936, 2006.
- Prado, G.; Vieira, M.B.C.M.; Santos, J.P.; Oliveira, M.S. Ocorrência de micotoxinas em milho pós-colheita e armazenado do estado de Minas Gerais, safra 1991. *Higiene Alimentar, São Paulo*, v.9, n.35, p.24-27, 1995.
- Puzzi, D. Abastecimento e armazenamento de grão. Campinas, São Paulo: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 2000. 666p.
- Queiroz, M.S.R.; Estudo de aflatoxina em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) durante armazenagem. João Pessoa: UFPB, 1998. 95f. Dissertação Mestrado.
- Queiroz, M.S.R.; Narain, N.; Freire, R.M.M.; Farias, S.R.; Santos, R.C. Determinação de aflatoxinas em sementes de amendoim, armazenadas em condições ambiente e em câmara fria. *Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas, Campina Grande*, v.10, n.1/2, p.1009-1015, 2006.
- Ranjan, K.S.; Sinha, A.K. Occurrence of mycotoxigenic fungi and mycotoxins in animal feed from Bihar, India. *Journal of the Science of food and agriculture, Essex*, v.56, n.1, p.39-47, 1991.
- Rodrigues, A.A.C.; Menezes, M. Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupi provenientes de Serra Talhada e de Caruaru, Estado de Pernambuco. *Revista de Fitopatologia Brasileira, Brasília*, v.27, p.532-537, 2002.
- Rosseto, C.A.V.; Lima, T.M.; Viegas, E.C.; Silva, F. O. Bittencourt, A. M. Efeito da calagem, da colheita e da secagem na qualidade sanitária do amendoim na seca. *Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*, v.38, n.5, p.567-573, 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, São Paulo*, v.30, p.85-88, 1999.

- Santos, R.C.; freire, R.M.M.; Suassuna, T.M.F.; Rego, G.M. Novas cultivares BRS Havana: Nova cultivar de amendoim de pele clara. Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.41, n.8, p.1337-1339. 2006.
- Santos, R.C.; Godoy, J.I.; Faveiro, A.P. Melhoramento do amendoim. In: Santos R.C. dos (Ed.). O agronegócio do amendoim. Campina Grande: EMBRAPA ALGODÃO, Cap. 4. p.126-192, 2005.
- Santos, T.S. Resposta de sementes de amendoim a diferentes doses de irradiação gama e contaminação por aflatoxina após inoculação artificial por *Aspergillus parasiticus*. Campina Grande: UFCG, 2008. 85f. Dissertação Mestrado.
- Sargeant, K.; O'Kelly, J.; Carnaghan, R.B.A.; Allcroft, R. The assay of a toxic principle in certain groundnut meals. Veterinary Record, London, v.73, p.1219-1223, 1961.
- Schmutterer, H. Insect growth-disrupting and fecundityreducing ingredients from the neem and chynaberry trees. In: MORGAN, E.D.; MANDAVA, N.B. CRC (eds) Handbook of natural pesticides: insect growth regulators. Boca Raton, 1987. v.3, p.119-167.
- Schuch, L.O.B.; Nedel, J.L.; Assis, F. N. et al. Vigor de sementes e análise de crescimento de aveia preta. Scientia Agricola, Piracicaba. 2000, v.57, n.2, p.305-312.
- Schwan-Estrada, K.R.F.; Stangarlin, J.R.; Cruz, M.E.S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. Revista Floresta, Paraná, v.30, n.1-2, p.129-137, 2000.
- Scussel, V.M. Micotoxinas em alimentos. Florianópolis: Insular, 1998.
- Sexana, R.C. Inseticides from neem. In: Arnason, J.T., Phologene, B.J.R. ; Morand, P. (ed). Inseticides of plant Origin. Washington: American Chemical Society. 1989. Cap. 9, P.110-129.

- Silva, R.N.G. Produção e armazenamento da polpa de umbu-cajá em pó. Campina Grande: UFCG, 2003. 90 f. Dissertação Mestrado.
- Silva, F.A.S. e; Azevedo, C.A.V de. A new version of the assistat-statistical assistance software. In: World Congress on Computers in Agriculture, 4, Orlando. Anais... Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p.393-396.
- Soares, L.M.V. Micotoxinas: Um método para análise simultânea e incidência em alimentos comercializados na região de Campinas. São Paulo: FEA, 1987. 129f. Tese Doutorado.
- Soares, L.M.V.; Rodrigues-Amaya, D.B.. Survey of aflatoxin, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian food by using multitoxin thin-layer chromatographic method. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, v.72, p.22-26, 1989.
- Souza, A.A. de. Influência do horário de colheita e do tratamento sobre a qualidade das sementes do algodoeiro herbáceo (*Gossypium hirsutum* L. r *latifolium* Hutch). Areia: UFPB, 2000. 88f. Dissertação Mestrado.
- Stroka, J.; Anillam, E. Development of a simplified densitometer for the determination of aflatoxins by thin-layer chromatography. Journal Chromatography. A, v. 904, p. 263-268, 2000.
- Viccini L.F.; Saraiva, L.S.; Cruz, C.D. Efeito da porcentagem de umidade de sementes de milho (*Zea mays* L.) na resposta a radiação gama. Bragantia, Campinas, v. 56, n.1. p.1-7, 1997.
- Viegas, E.C.; Nascimento, F.G.; Meyrelles, B.G.; Rossetto, C.A.V. Qualidade fisiológica de sementes armazenadas de amendoim influenciadas pelos produtos sintéticos e de origem vegetal. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v.7, n.3, p.79-85, 2005a.

Viegas, E.C.; Soares, A.; Carmo, M.G.F.; Rossetto, C.A.V. Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. Horticultura Brasileira, Campinas, v.23, n.4, p.915-919, 2005b.

Vilela, G.R. Efeito do óleo de *Eucalyptus globulus* sobre espécies de aflatoxinas. Piracicaba: ESALQ, 2007. 64f. Dissertação Mestrado.

Wicklow, D.T.; Horn, B.W.; Shotwell, O.L.; Hesseltine, C.W.; Caldwell, R.W. Fungal interference with *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of maize grown in a controlled environment. Journal Phytopatology, v.78, p.68-74, 1988.

Zanão, C.F.P. Características físico-químicas e sensoriais do arroz (*Oriza sativa* L.) irradiado e o efeito no desenvolvimento do *Sitophilus oryzae* L. Piracicaba, ESALQ, 2007. 79f. Dissertação Mestrado.

Apêndice

Apêndice A

Tabela 1. Análise de variância dos valores médios da umidade das sementes de amendoim, variedade BRS Havana, armazenadas em embalagem de PET

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	3,60	3,60	31,68**
Dose (D)	4	3,65	0,91	8,09**
Procedimento(P)	1	0,32	0,32	2,88 ^{ns}
Tempo (T)	2	0,13	0,06	0,60 ^{ns}
E x D	4	4,08	1,02	9,02**
E x P	1	0,23	0,23	2,05 ^{ns}
E x T	2	0,36	0,18	1,61 ^{ns}
D x P	4	0,94	0,23	2,09 ^{ns}
D x T	8	2,12	0,26	2,34*
P x T	2	0,09	0,04	0,42 ^{ns}
E x D x P	4	0,15	0,03	0,34 ^{ns}
E x D x T	8	0,48	0,06	0,53 ^{ns}
E x P x T	2	1,40	0,70	6,19**
D x P x T	8	1,07	0,133	1,18 ^{ns}
E x D x P x T	8	1,44	0,18	1,60 ^{ns}
Tratamento	59	20,13	0,34	3,01**
Resíduo	60	6,78	0,11	-
Total	119	26,91	-	-

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 dos desvios; F - Variável do teste

Apêndice B

Tabela 1. Análise de variância dos valores médios da umidade das sementes de amendoim variedade BRS Havana, armazenadas em embalagem de polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	17,48	17,48	87,68 **
Dose (D)	4	2,30	0,57	2,89 *
Procedimento(P)	1	4,63	4,63	23,24 **
Tempo (T)	2	20,44	10,22	51,28**
E x D	4	0,09	0,02	0,12 ^{ns}
E x P	1	2,26	2,26	11,38 **
E x T	2	0,69	0,34	1,74 ^{ns}
D x P	4	2,00	0,50	2,50 ^{ns}
D x T	8	4,24	0,53	2,66 *
P x T	2	3,27	1,63	8,22 **
E x D x P	4	0,42	0,10	0,53 ^{ns}
E x D x T	8	7,02	0,87	4,40 **
E x P x T	2	1,56	0,78	3,92 *
D x P x T	8	3,13	0,39	1,96 ^{ns}
E x D x P x T	8	4,98	0,62	3,12 **
Tratamento	59	74,59	1,26	6,34 **
Resíduo	60	11,96	0,19	-
Total	119	86,55	-	

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

Apêndice C

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *A. flavus* nas sementes de amendoim variedade BRS Havana, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 9 meses, em embalagem PET

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	2406,66	2406,66	196,90**
Dose (D)	4	39483,33	9870,83	807,61**
Procedimento(P)	1	149001,66	149001,66	12191,04**
Tempo (T)	2	2653,33	1326,66	108,54**
E x D	4	5701,66	1425,41	116,62**
E x P	1	806,66	806,66	66,00**
E x T	2	3023,33	1511,66	123,68**
D x P	4	37523,33	9380,83	767,52**
D x T	8	8471,66	1058,95	86,64**
P x T	2	2653,33	1326,66	108,54**
E x D x P	4	3835,00	958,75	78,44**
E x D x T	8	6518,33	814,79	66,66**
E x P x T	2	1743,33	871,66	71,31**
D x P x T	8	7771,66	971,45	78,91**
E x D x P x T	8			
Tratamento	59	283158,33	4799,29	392,66**
Resíduo	180	2200,00	12,22	-
Total	239	285358,33	-	-

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

Apêndice D

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *A. niger* nas sementes de amendoim variedade BRS Havana, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 9 meses, em embalagem PET

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	14,97	14,97	1,54 ^{ns}
Dose (D)	4	10523,39	2630,84	270,69**
Procedimento(P)	1	54578,13	54578,13	5615,67**
Tempo (T)	2	16735,10	8367,55	860,95**
E x D	4	2659,16	664,79	68,40**
E x P	1	134,85	134,85	13,87**
E x T	2	1846,25	923,12	94,98**
D x P	4	10103,73	2525,93	259,89**
D x T	8	5237,14	654,64	67,35**
P x T	2	15945,40	7972,7	820,33**
E x D Xp	4	2239,18	559,79	57,5987**
E x D x T	8	2714,16	339,27	34,9083**
E x P x T	2	1276,64	638,32	65,6786**
D x P x T	8	5327,27	665,90	68,5170**
E x D x P x T	8	2384,27	298,03	30,6654**
Tratamento	59	131719,69	2232,53	229,7111**
Resíduo	180	1749,40	9,71	-
Total	239	133469,09	-	-

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

Apêndice E

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *Rhizopus* nas sementes de amendoim variedade BRS Havana, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 9 meses, em embalagem PET

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	3999,70	3999,70	575,95**
Dose (D)	4	19383,96	4845,99	697,82**
Procedimento(P)	1	42122,28	42122,28	6065,60**
Tempo (T)	2	15645,35	7822,67	1126,46**
E x D	4	1578132	3945,33	568,12**
E x P	1	5413,48	5413,48	779,54**
E x T	2	20284,61	10142,30	1460,49**
D x P	4	5467,38	1366,84	196,82**
D x T	8	33908,61	4238,57	610,35**
P x T	2	5716,08	2858,04	411,55**
E x D Xp	4	9169,52	2292,38	330,10**
E x D x T	8	20455,75	2556,96	368,20**
E x P x T	2	157,38	78,69	11,33**
D x P x T	8	11713,45	1464,18	210,84**
E x D x P x T	8	5792,02	724,00	104,25**
Tratamento	59	215010,93	3644,25	524,77**
Resíduo	180	1250,00	6,94	-
Total	239	216260,93	-	-

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

Apêndice F

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *Penicillium* nas sementes de amendoim variedade BRS Havana, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 9 meses, em embaagem.

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	666,53	666,53	342,78*
Dose (D)	4	3804,02	951,00	489,08**
Procedimento(P)	1	2533,18	2533,18	1302,77**
Tempo (T)	2	2169,66	1084,83	557,91**
E x D	4	2666,13	666,53	342,78**
E x P	1	666,53	666,53	342,78**
E x T	2	1333,06	666,53	342,78**
D x P	4	3804,02	951,00	489,08**
D x T	8	5012,34	626,54	322,22**
P x T	2	2169,66	1084,83	557,91**
E x D x P	4	2666,13	666,53	342,78**
E x D x T	8	5332,26	666,53	342,78**
E x P x T	2	1333,06	666,53	342,78**
D x P x T	8	5012,34	626,54	322,22**
E x D x P x T	8	5332,26	666,53	342,78**
Tratamento	59	44501,22	754,25	387,90**
Resíduo	180	350,00	1,94	-
Total	239	44851,22	-	-

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

Apêndice G

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *A. flavus* nas sementes de amendoim variedade BRS Havana, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 9 meses, em embalagem polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	510,41	510,41	37,12**
Dose (D)	4	28184,80	7046,20	512,45**
Procedimento(P)	1	75967,57	75967,57	5524,91**
Tempo (T)	2	437,40	218,70	15,90**
E x D	4	3945,83	986,45	71,74**
E x P	1	770,41	770,41	56,03**
E x T	2	740,51	370,41	26,92**
D x P	4	2778,21	6927,05	503,78**
D x T	8	8762,25	1095,28	79,65**
P x T	2	190,76	95,38	6,93**
E x D x P	4	3335,83	833,95	60,65**
E x D x T	8	72,82	910,27	66,20**
E x P x T	2	400,59	200,29	14,56**
D x P x T	8	8908,95	1113,61	80,99**
E x D x P x T	8	6222,35	777,79	56,56**
Tratamento	59	173368,15	2938,44	213,70
Resíduo	180	2475,00	13,75	-
Total	239	175843,15	-	-

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

Apêndice H

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *A. niger* nas sementes de amendoim variedade BRS Havana, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 9 meses, em embalagem polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	570,44	570,44	33,40**
Dose (D)	4	53529,30	13382,32	783,59**
Procedimento(P)	1	91621,10	91621,10	5364,84**
Tempo (T)	2	10729,62	5364,81	314,13**
E x D	4	1118,94	279,73	16,37**
E x P	1	770,30	770,30	45,10**
E x T	2	24751,11	12375,55	724,64**
D x P	4	12869,94	3217,48	188,39**
D x T	8	22456,82	2807,10	164,36**
P x T	2	2611,96	1305,98	76,47**
E x D x P	4	1202,07	300,51	17,59**
E x D x T	8	22732,64	2841,58	166,38**
E x P x T	2	21661,99	10830,99	634,20**
D x P x T	8	38789,60	4848,70	283,91**
E x D x P x T	8	42233,38	5279,17	309,12**
Tratamento	59	347649,29	5892,36	345,02**
Resíduo	180	17,07	-	-
Total	239	-	-	-

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

Apêndice I

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *Rhizopus* nas sementes de amendoim variedade BRS Havana, tratadas com extratos de nim e pimenta- -do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 9 meses, em embalagem polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	453,66	453,66	47,35**
Dose (D)	4	39709,18	9927,29	1036,22**
Procedimento(P)	1	70367,65	70367,65	7345,05**
Tempo (T)	2	5061,75	2530,87	264,17**
E x D	4	12488,97	3122,24	325,90**
E x P	1	6098,90	6098,90	636,61**
E x T	2	50100,84	25050,42	2614,79**
D x P	4	25564,89	6391,22	667,12**
D x T	8	35605,59	4450,69	464,56**
P x T	2	33176,84	16588,42	1731,51**
E x D Xp	4	16541,44	4135,36	431,65**
E x D x T	8	6840,60	855,07	89,25**
E x P x T	2	28248,48	14124,74	1474,35**
D x P x T	8	10948,89	1368,61	142,85**
E x D x P x T	8	21492,15	2686,51	280,42**
Tratamento	59	362700,88	6147,47	641,67**
Resíduo	180	1724,45	9,58	-
Total	239	362700,88	-	-

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

Apêndice J

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *Penicillium* nas sementes de amendoim variedade BRS Havana, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 9 meses, em embalagem polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	5415,00	5415,00	3249,00
Dose (D)	4	1840,00	460,00	276,00**
Procedimento(P)	1	24401,66	24401,66	14641,00**
Tempo (T)	2	37463,33	18731,66	11239,00 *
E x D	4	2793,33	698,33	419,00**
E x P	1	5415,00	5415,00	3249,00**
E x T	2	10830,00	5415,00	3249,00**
D x P	4	1840,00	460,00	276,00**
D x T	8	9820,00	1227,50	736,50**
P x T	2	37463,33	18731,66	11239,00**
E x D Xp	4	2793,33	698,33	419,00**
E x D x T	8	5586,66	698,33	419,00**
E x P x T	2	10830,00	5415,00	3249,00**
D x P x T	8	9820,00	1221,50	736,50**
E x D x P x T	8	5586,66	698,33	419,00**
Tratamento	59	171898,33	2913,53	1748,11**
Resíduo	180	300,00	1,66	-
Total	239	172198,33	-	-

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

Apêndice L

Tabela 1. Análise de variância dos valores médios da umidade das sementes de amendoim variedade BR,1 armazenadas em embalagem de PET

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	4,237	4,23	55,68**
Dose (D)	4	1,26	0,31	4,14**
Procedimento(P)	1	0,00	0,00	0,01 ^{ns}
Tempo (T)	2	13,24	6,62	87,00**
E x D	4	0,67	0,16	2,21 ^{ns}
E x P	1	0,16	0,16	2,11 ^{ns}
E x T	2	9,54	4,77	62,68**
D x P	4	0,85	0,21	2,80*
D x T	8	5,03	0,62	8,26**
P x T	2	0,12	0,06	0,80 ^{ns}
E x D Xp	4	0,24	0,05	0,73 ^{ns}
E x D x T	8	2,86	0,35	4,70**
E x P x T	2	0,52	0,26	3,44*
D x P x T	8	0,59	0,74	0,97 ^{ns}
E x D x P x T	8	0,81	0,10177	1,33 ^{ns}
Tratamento	59	40,14	0,68	8,94**
Resíduo	60	4,56	0,07	-
Total	119	44,71	-	-

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

Apêndice M

Tabela 1. Análise de variância dos valores médios da umidade das sementes de amendoim variedade BRS Havana, armazenadas em embalagem de polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	4,80	4,80	26,55**
Dose (D)	4	8,06	2,01	11,14**
Procedimento(P)	1	0,05	0,05	0,33 ^{ns}
Tempo (T)	2	52,30	26,15	144,66**
E x D	4	1,33	0,33	1,84 ^{ns}
E x P	1	0,06	0,06	0,36 ^{ns}
E x T	2	10,73	5,36	29,70**
D x P	4	0,99	0,24	1,37 ^{ns}
D x T	8	5,00	0,62	3,46**
P x T	2	0,92	0,14	0,80 ^{ns}
E x D x P	4	1,55	0,38	2,14 ^{ns}
E x D x T	8	3,82	0,47	2,64*
E x P x T	2	0,05	0,02	0,15 ^{ns}
D x P x T	8	3,93	0,49	2,72*
E x D x P x T	8	1,72	0,21	1,19 ^{ns}
Tratamento	59	94,72	1,60	8,88**
Resíduo	60	10,84	0,18	-
Total	119	105,59	-	-

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

Apêndice N

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *A. flavus* nas sementes de amendoim variedade BR1, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 90 dias, em embalagem PET

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	5801,66	5801,66	286,10**
Dose (D)	4	7854,16	1963,54	96,83**
Procedimento(P)	1	15681,66	15681,66	773,34**
Tempo (T)	2	6365,83	3182,91	156,96**
E x D	4	5094,16	1273,54	62,80**
E x P	1	3081,66	3081,66	151,97**
E x T	2	3105,83	1552,91	76,58**
D x P	4	8280,83	2070,20	102,09**
D x T	8	1250,83	156,35	7,71**
P x T	2	2285,83	1142,91	56,36**
E x D x P	4	5880,83	1470,20	72,50**
E x D x T	8	1835,83	229,47	11,31**
E x P x T	2	865,83	432,91	21,34**
D x P x T	8	489,16	61,14	3,01**
E x D x P x T	8	2034,16	254,27	12,53**
Tratamento	59	69908,33	1184,88	58,43**
Resíduo	180	3650,00	20,27	-
Total	239	73558,33	-	-

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

Apêndice O

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *A. niger* nas sementes de amendoim variedade BR1, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 90 dias, em embalagem PET

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	2158,56	2158,56	242,83**
Dose (D)	4	21353,46	5338,36	600,56**
Procedimento(P)	1	5603,57	5603,57	630,40**
Tempo (T)	2	32604,34	16302,17	1833,99**
E x D	4	29159,92	7289,981	820,12**
E x P	1	53988,00	53988,00	6073,65**
E x T	2	10106,70	5053,35	568,50**
D x P	4	4779,643	1194,91	134,42**
D x T	8	36353,67	4544,20	511,22**
P x T	2	703,24	351,62	39,557**
E x D Xp	4	17383,05	4345,76	488,89**
E x D x T	8	23644,91	2955,61	332,50**
E x P x T	2	25086,98	12543,49	1411,14**
D x P x T	8	12117,93	1514,74	170,40**
E x D x P x T	8	10733,27	1341,65	150,93**
Tratamento	59	285777,28	4843,68	544,91**
Resíduo	180	1600,00	8,88	-
Total	239	287377,28	-	-

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

Apêndice P

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *Rhizopus* nas sementes de amendoim variedade BR1 tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 90 dias, em embalagem PET

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	10136,88	10136,88	1920,67**
Dose (D)	4	22721,89	5680,47	1076,30**
Procedimento(P)	1	239,68	239,68	45,41**
Tempo (T)	2	30337,51	15168,75	2874,08**
E x D	4	3995,92	998,98	189,28**
E x P	1	5998,40	5998,40	1136,53**
E x T	2	12306,30	6153,15	1165,86**
D x P	4	16708,28	4177,07	791,44**
D x T	8	18126,33	2265,79	429,30**
P x T	2	749,90	374,95	71,04**
E x D x P	4	6552,63	1638,15	310,38**
E x D x T	8	12361,95	1545,24	292,78**
E x P x T	2	13327,10	6663,55	1262,56**
D x P x T	8	70546,68	8818,33	1670,84**
E x D x P x T	8	9375,61	1171,95	222,05**
Tratamento	59	23348509	3957,37	749,81**
Resíduo	180	950,00	5,27	-
Total	239	234435,09	-	-

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

Apêndice Q

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *Penicillium* nas sementes de amendoim variedade BR1 tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 90 dias em embalagem PET

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	59.80017	59.80017	16.5600**
Dose (D)	4	6561.30396	1640.32599	454.2441**
Procedimento(P)	1	3999.38033	3999.38033	1107.5207**
Tempo (T)	2	2933.49057	1466.74529	406.1756**
E x D	4	44.05020	11.01255	3.0496*
E x P	1	601.28673	601.28673	166.5102**
E x T	2	3121.43009	1560.71505	432.1980**
D x P	4	4984.43684	1246.10921	345.0764**
D x T	8	4078.27756	509.78470	141.1711**
P x T	2	4897.71057	2448.85529	6778.1445**
E x D Xp	4	918.59684	229.64921	63.5952**
E x D x T	8	5558.47044	694.80881	192.4086**
E x P x T	2	1661.02337	830.51169	229.9879**
D x P x T	8	5396.12396	674.51550	186.7889**
E x D x P x T	8	3305.54356	413.19294	114.4227**
Tratamento	59	48120.92519	815.60890	225.8609**
Resíduo	180	650.00000	3.61111	-
Total	239	48770.92519	-	-

ns – não significativo

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

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

Apêndice R

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *A. flavus* nas sementes de amendoim variedade BR1, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 90 dias, em embalagem polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	16006,66	16006,66	1477,53**
Dose (D)	4	22618,33	5654,58	521,96**
Procedimento(P)	1	2406,66	2406,66	222,15**
Tempo (T)	2	1510,83	755,416	69,73**
E x D	4	13785,00	3446,25	318,11**
E x P	1	166,66	166,66	15,38**
E x T	2	6655,83	3327,91	307,19**
D x P	4	4618,33	1154,58	10657**
D x T	8	4439,16	554,89	51,22**
P x T	2	3480,83	1740,41	160,65**
E x D x P	4	91,66	22,91	2,11 ^{ns}
E x D x T	8	7102,50	887,81	81,99**
E x P x T	2	225,83	112,91	10,42**
D x P x T	8	5269,16	658,64	60,79**
E x D x P x T	8	965,83	120,72	11,14**
Tratamento	59	89343,33	1514,29	139,78
Resíduo	180	1950,00	10,83	-
Total	239	91293,33	-	-

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

Apêndice S

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *niger* nas sementes de amendoim variedade BR1, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 90 dias, em embalagem polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	21,60	21,60	3,78 ^{ns}
Dose (D)	4	7677,56	1919,39	336,73**
Procedimento(P)	1	25792,26	25792,26	4524,95**
Tempo (T)	2	14754,70	7377,35	1294,27**
E x D	4	4353,90	1088,47	190,96**
E x P	1	16533,60	16533,60	2900,63**
E x T	2	822,70	411,35	72,16**
D x P	4	699,90	174,97	30,69**
D x T	8	48782,13	6097,76	1069,78**
P x T	2	5320,03	2660,01	466,66**
E x D Xp	4	6186,90	1546,72	271,35**
E x D x T	8	1410,80	1788,85	313,83**
E x P x T	2	570,70	285,350	50,06**
D x P x T	8	17306,80	2163,35	379,53**
E x D x P x T	8	10152,80	1269,10	222,64**
Tratamento	59	173286,40	2937,05	515,27**
Resíduo	180	1026,00	5,70	-
Total	239	174312,40	-	-

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

Apêndice T

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *Rhizopus* nas sementes de amendoim variedade BR1, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 90 dias, em embalagem polietileno trançada.

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	33,75	33,75	4,76*
Dose (D)	4	35101,66	8775,41	1238,88**
Procedimento(P)	1	3760,41	3760,41	530,88**
Tempo (T)	2	6813,33	3406,66	480,94**
E x D	4	3010,00	752,50	106,23**
E x P	1	4250,41	4250,41	600,05**
E x T	2	730,00	365,00	51,52**
D x P	4	5541,66	1385,41	195,58**
D x T	8	22028,33	2753,54	388,73**
P x T	2	625333	3126,66	441,41**
E x D Xp	4	2260,00	565,00	79,76**
E x D x T	8	3795,00	474,37	66,97**
E x P x T	2	4643,33	2321,66	327,76**
D x P x T	8	32688,33	4086,04	576,85**
E x D x P x T	8	7015,00	876,87	123,79**
Tratamento	59	137924,58	2337,70	330,02**
Resíduo	180	1275,00	7,08	-
Total	239	139199,58	-	-

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

Apêndice U

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *Penicillium* nas sementes de amendoim variedade BR1, tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 90 dias, em embalagem polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	201,66	201,66	31,56**
Dose (D)	4	5910,83	1477,70	231,29**
Procedimento(P)	1	1500,00	1500,00	234,78**
Tempo (T)	2	305,83	152,91	23,93**
E x D	4	119,16	29,79	4,66**
E x P	1	81,66	81,66	12,78**
E x T	2	275,83	137,91	21,58**
D x P	4	870,83	217,70	34,07**
D x T	8	2381,66	297,70	46,5978**
P x T	2	232,50	116,25	18,19**
E x D Xp	4	339,16	84,79	1327**
E x D x T	8	803,33	100,41	15,71**
E x P x T	2	335,83	167,91	26,28**
D x P x T	8	1121,66	140,20	21,94**
E x D x P x T	8	943,33	117,91	18,45**
Tratamento	59	15423,33	261,41	40,91**
Resíduo	180	1150,00	6,38	-
Total	239	16573,33	-	-

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

Apêndice V

Tabela 1. Análise de variância da germinação das sementes de amendoim variedade BRI tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 90 dias, em embalagem PET

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	59000,70	59000,70	3500,08 **
Dose (D)	4	25374,90	6343,72	376,32 **
Procedimento(P)	1	16716,70	16716,70	991,68 **
Tempo (T)	2	26799,85	13399,92	794,92 **
E x D	4	21442,73	5360,68	318,01**
E x P	1	1349,00	1349,00	80,02 **
E x T	2	2069,25	1034,62	61,37 **
D x P	4	2499,48	624,87	37,06 **
D x T	8	1897,72	237,21	14,07 **
P x T	2	2527,80	1263,90	74,97 **
E x D Xp	4	1099,18	274,79	16,30**
E x D x T	8	3154,49	394,31	23,39 **
E x P x T	2	3266,00	1633,00	96,87**
D x P x T	8	899,41	112,43	6,66 **
E x D x P x T	8	1048,74	131,09	7,7768 **
Tratamento	59	169146,04	2866,88	170,0713 **
Resíduo	180	3034,25	16,85	-
Total	239	172180,29	-	-

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

Apêndice X

Tabela 1. Análise de variância da germinação das sementes de amendoim variedade BR1 tratadas com extratos de nim e pimenta-do-reino e armazenadas em ambiente não controlado durante 90 dias, em embalagem polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Extrato (E)	1	66800,06	66800.06	87447.36 **
Dose (D)	4	15850,40	3962.60	5187.40 **
Procedimento(P)	1	10935,00	10935.00	14314.90 **
Tempo (T)	2	22744,75	11372.37	14887.47 **
E x D	4	20666,76	5166.69	6763.66 **
E x P	1	1206,01	1206.01	1578.78 **
E x T	2	262,30	131.154	171.69 **
D x P	4	534,16	133.54	174.81 **
D x T	8	2419,57	302.44687	395.93 **
P x T	2	2064,92	1032.46	1351.58 **
E x D x P	4	2085,40	521.35000	682.49 **
E x D x T	8	754,35	94.29479	123.44 **
E x P x T	2	67,60	33.80417	44.25 **
D x P x T	8	717,90	89.73854	117.47 **
E x D x P x T	8	641,22	80.15312	104.92 **
Tratamento	59	147750,48	2504.24	3278.28 **
Resíduo	180	137,50	0.763	-
Total	239	147887,98	-	-

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

Apêndice Z

Tabela 1. Análise de variância dos valores médios do teor de umidade em sementes de amendoim irradiadas com ^{60}Co em diferentes doses e armazenadas por 60 dias, em embalagem de PET e polietileno trançado

	FV	GL	SQ	QM	F
Embalagem (E)		7	1,98	0,28	14,23**
Dose (D)		1	2,16	2,16	108,50**
Tempo (T)		2	27,64	13,82	694,47**
E x D		7	1,04	0,14	7,50**
E x T		14	1,92	0,13	6,91**
D x T		2	4,43	2,21	111,47**
E x D x T		14	2,10	0,15	7,55**
Tratamento		47	41,31	0,87	44,15**
Resíduo	48	0,95	0,01	-	
Total		95	42,26	42,26	-

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

Apêndice A1

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *A. flavus* nas sementes de amendoim variedade BR1, irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado durante 60 dias, em embalagem de PET e polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Embalagem (E)	7	142139,58	20305,65	801,01**
Dose (D)	1	8802,08	8802,08	347,26**
Tempo (T)	2	24169,79	12084,90	476,77**
E x D	7	5122,92	731,85	28,87**
E x T	14	9638,54	688,47	27,16**
D x T	2	2626,04	1313,02	51,80**
E x D x T	14	11548,96	824,93	32,54**
Tratamento	47	204047,92	4341,44	171,28**
Resíduo	144	3650,00	25,35	-
Total	191	207697,92	-	-

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

Apêndice B1

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *A. niger* nas sementes de amendoim variedade BR1, irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado durante 60 dias, em embalagem de PET e polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Embalagem (E)	7	51557,81	7365,40	1212,13**
Dose (D)	1	275,52	275,52	45,34**
Tempo (T)	2	1040,62	520,31	85,63**
E x D	7	1061,98	151,71	24,97**
E x T	14	2234,38	159,60	26,26**
D x T	2	357,29	178,65	29,40**
E x D x T	14	1267,71	90,55	14,90**
Tratamento	47	57795,31	1229,69	202,37**
Resíduo	144	875,00	6,08	-
Total	191	58670,31	-	-

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

Apêndice C1

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *Rhizopus* nas sementes de amendoim variedade BR1, irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado durante 60 dias, em embalagem de PET e polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Embalagem (E)	7	19522,92	2788,99	191,24**
Dose (D)	1	1633,33	1633,33	112,00**
Tempo (T)	2	628,12	314,06	21,54**
E x D	7	16508,33	2358,33	161,71**
E x T	14	17380,21	1241,44	85,13**
D x T	2	7488,54	3744,27	256,75**
E x D x T	14	12619,79	901,41	61,81**
Tratamento	47	75781,25	1612,37	110,56**
Resíduo	144	2100,00	14,58	-
Total	191	77881,25	-	-

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

Apêndice D1

Tabela 1. Análise de variância da incidência do fungo *Penicillium* nas sementes de amendoim variedade BR1, irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado durante 60 dias, em embalagem de PET e polietileno trançado

FV	GL	SQ	QM	F
Embalagem (E)	7	24953,65	3564,80	436,88**
Dose (D)	1	638,02	638,02	78,19**
Tempo (T)	2	11507,29	5753,65	705,13**
E x D	7	1332,81	190,40	23,33**
E x T	14	14426,04	1030,43	126,28**
D x T	2	1276,04	638,02	78,19**
E x D x T	14	3640,62	260,04	31,87**
Tratamento	47	57774,48	1229,24	150,65**
Resíduo	144	1175,00	8,15972	-
Total	191	58949,48	-	-

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

Apêndice E1

Tabela 1. Análise de variância da germinação de sementes de amendoim variedade BR1 irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias

FV	GL	SQ	QM	F
Embalagem (E)	7	48819,75	6974,25	16463,80**
Dose (D)	1	1716,02	1716,02	4050,93**
Tempo (T)	2	10832,57	5416,29	12785,99**
E x D	7	1306,15	186,59	440,48**
E x T	14	2350,34	167,88	396,31**
D x T	2	38,89	19,44	45,90**
E x D x T	14	1907,20	136,23	321,59**
Tratamento	47	66970,92	1424,91	3363,73**
Resíduo	144	61,00	0,42	-
Total	191	67031,92	-	-

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

Apêndice F1

Tabela 1. Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação D x E em sementes de amendoim, irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias

Dose (kGy)	Tempo (dias)		
	A. flavus		
	8	30	60
0	70,00 aC	90,00 aB	100,00 aA
0,50	65,00 aB	77,50 bA	78,75 bA
1,00	21,25 bB	23,75 dB	48,75 dA
1,50	16,25 bC	52,50 cA	45,00 dB
2,00	3,75 cC	45,00 cB	60,00 cA
2,50	5,00 cC	25,00 dB	33,75 eA
3,00	0,00 cB	5,00 eB	22,50 fA
4,00	0,00 cB	5,00 eAB	8,75 gA
DMS (C)	7,73		
DMS (L)	5,96		

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; Umidade Inicial = 8,01%; micoflora inicial = 55% *A. flavus*, 36,67% *A. niger* e 36,67% *Rhizopus*; PeT: Polietileno Trançado

Apêndice G1

Tabela 1. Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação D x E em sementes de amendoim, irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias

Dose (kGy)	Tempo (dias)		
	A. niger		
	8	30	60
0	32,50 aC	40,00 bB	47,50 aA
0,50	25,00 bB	45,00 aA	42,50 bA
1,00	5,00 cB	15,00 cA	13,75 cA
1,50	0,00 dA	0,00 dA	0,00 dA
2,00	0,00 dA	0,00 dA	0,00 dA
2,50	0,00 dA	0,00 dA	0,00 dA
3,00	0,00 dA	0,00 dA	0,00 dA
4,00	0,00 dA	0,00 dA	0,00 dA
DMS (C)	3,78		
DMS (L)	2,92		

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; Umidade Inicial = 8,01%; micoflora inicial = 55% *A. flavus*, 36,67% *A. niger* e 36,67% *Rhizopus*; PeT: Polietileno Trançado

Apêndice H1

Tabela 1. Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação D x E em sementes de amendoim, irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias

Dose (kGy)	Tempo (dias)		
	Rhisopus		
	8	30	60
0	47,50 aA	35,00 bB	38,75 aB
0,50	27,50 cA	30,00 bA	10,00 dB
1,00	27,50 cB	57,50 aA	10,00 dC
1,50	10,00 deB	5,00 eC	32,50 bA
2,00	40,00 bA	20,00 edB	20,00 cB
2,50	15,00 dB	22,50 cA	20,00 cB
3,00	11,25 dB	15,00 dB	21,25 cA
4,00	5,00 eA	6,25 eA	5,00 dA
DMS (C)	5,86		
DMS (L)	4,52		

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; Umidade Inicial = 8,01%; micoflora inicial = 55% *A. flavus*, 36,67% *A. niger* e 36,67% *Rhisopus*; PeT: Polietileno Trançado

Apêndice II

Tabela 4. Valores médios da incidência (%) de fungos para a interação D x E em sementes de amendoim, irradiadas com ^{60}Co e armazenadas em ambiente não controlado, durante 60 dias

Dose (kGy)	Tempo (dias)		
	Penicillium		
	8	30	60
0	0,00 aC	51,25 aB	65,00 aA
0,50	0,00 aC	21,25 cA	10,00 bB
1,00	0,00 aC	26,25 bA	12,50 bB
1,50	0,00 aB	13,75 dA	13,75 bA
2,00	0,00 aC	15,00 dA	11,25 bB
2,50	0,00 aB	11,25 dA	10,00 cA
3,00	0,00 aA	0,00 eA	0,00 cA
4,00	0,00 aA	0,00 eA	0,00 cA
		5,86	
		4,52	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Umidade Inicial = 8,01%; micoflora inicial = 55% *A. flavus*, 36,67% *A. niger* e 36,67% *Rhizopus*; PEI: Polietileno Trançado