

# Effect of season, location and field-drying treatment on *in vitro* seed colonization of groundnut genotypes by *Aspergillus flavus* (1)

V. K. MEHAN, D. McDONALD and B. LALITHA (2)

**Summary.** — *Aspergillus flavus* colonization levels on ten groundnut genotypes were significantly higher on seed from the 1979/80 and 1980/81 postrainy season crops than on seed from the 1979 and 1980 rainy season crops. Sixty-four groundnut genotypes were tested for resistance to seed colonization by *A. flavus* in relation to crop season, location (fields) and period of windrow drying. Seed colonization levels on the genotypes were higher on seed from the 1980/81 postrainy season crops than on seed from the 1981 rainy season crops. Windrow drying treatment for 48 h in the postrainy season resulted in significantly higher percentages of seed colonized compared to 24 h treatment. Significant interactions occurred between genotypes and locations (fields) in both the rainy and postrainy seasons. Levels of seed colonization by *A. flavus* can be influenced by growing season, crop location, and post-harvest drying treatment.

## INTRODUCTION

The use of groundnut cultivars resistant to seed invasion and colonization by toxigenic strains of *Aspergillus flavus* is a possible means of reducing aflatoxin contamination [Mixon and Rogers, 1973; Mehan *et al.*, 1981]. Such resistance has been identified in several genotypes, one which is the released commercial Indian cultivar J11 [Mixon and Rogers, 1973; Zambettakis *et al.*, 1981; Mehan and McDonald, 1981]. Mehan and McDonald [1981] reported that levels of colonization by *A. flavus* of rehydrated seed of a number of cultivars were higher on seed from a postrainy season crop than on seed from a rainy season crop at the ICRISAT center. This paper reports on the effect of crop season, location of field, and period of windrow drying on the colonization of rehydrated cured, sound mature seeds of various genotypes by a toxigenic *A. flavus* strain.

## MATERIALS AND METHODS

**Experimental site:** all trials were carried out on ICRISAT Center farm at Patancheru (17° 3' N lat., 78° 16' E long.; alt. 541 m), near Hyderabad (India).

(1) Submitted as Journal Article No. 300 by the International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT), Patancheru, P.O. 502 324, A.P. (India).

(2) Groundnut improvement program, ICRISAT, Patancheru, P.O. 502 324, A.P. (India).

**Field trials:** Six field trials were carried out from 1979 to 1981 and details of season, soils, sowing and harvest dates, and number of genotypes included are given in Table 1.

### 1. — Trial with 10 genotypes in 4 seasons (2 rainy and 2 postrainy seasons).

Ten genotypes were grown in a randomized block design with 3 replications. Plots were 9 m in length by 3.75 m in width with five ridges 75 cm apart. Seeds were sown singly at 15 cm spacing along ridges. Recommended cultural practices were followed. Irrigation was provided when necessary to avoid drought stress. Genotypes were harvested at maturity and plants arranged in inverted windrows in the field to dry. After windrow drying (for 3 days in the rainy seasons and 2 days in the postrainy seasons) the pods were hand-picked and dried in the shade until the seed moisture content was reduced to 6-7 p. 100. Dried pods were then stored in cloth bags at room temperature until required for testing.

### 2. — Trial with 64 genotypes in 2 seasons (1 rainy and 1 postrainy season).

Sixty four genotypes were grown in a 8 × 8 triple lattice design in two fields in each season—one an alfisol and the other an inceptisol. Plot size, plant spacing and cultural

TABLE 1. — Details of field trials (*Détails des essais au champ*) 1979-1981

Year ( <i>Année</i> )	Season ( <i>Saison</i> )	Soil type ( <i>Type de sol</i> )	No. of genotypes ( <i>Nbre de génotypes</i> )	Date	
				sown ( <i>de semis</i> )	harvested ( <i>de récolte</i> )
1979	Rainy ( <i>des pluies</i> )	Alfisol	10	16/6	4/10
1979/80	Postrainy ( <i>sèche</i> )	Alfisol	10	4/12	9/4
1980	Rainy ( <i>des pluies</i> )	Alfisol	10	21/6	3/10
1980/81	Postrainy ( <i>sèche</i> )	Alfisol	10	26/11	3/4
1980/81	Postrainy ( <i>sèche</i> )	1 Alfisol	64	26/11	4/4
		2 Inceptisol	64	26/11	4/4
		1 Alfisol	64	22/6	29/9
		2 Inceptisol	64	22/6	29/9

practices were as described above. After lifting the plants were dried in inverted windrows. Two drying treatments were given : in the 1980/81 postrainy season the drying treatments were 24 h and 48 h windrow drying whereas in the 1981 rainy season drying was for 48 h and 96 h. After windrow drying the pods were hand-picked, dried and stored as described above.

**Seed colonization test :** for all trials, undamaged, mature seeds from the stored pods were tested for resistance to colonization by *A. flavus* using a modification [Mehan and McDonald, 1980] of the method described by Mixon and Rogers [1973]. For each trial one lot of 20 g of seed (surfaced sterilized in 0.1 p. 100 mercuric chloride solution) was tested from each replicated yield plot of each genotype. Sterile water added to a sample of 20 g of seed to raise their moisture contents to 20 p. 100. The rehydrated seeds were placed in sterile Petri plates and surface-inoculated with 1 ml of a conidial suspension (4 × 10<sup>6</sup> conidia/ml) from 8-day-old culture of the toxigenic *A. flavus* strain Af8-3-2A. The plates were incubated at 25 °C and the percentage of seed colonized was recorded after 8 days.

To compare the effect of crop seasons on the *in vitro* seed colonization of 10 genotypes, pooled analysis over both years and seasons was done (error variances were found homogeneous under arc sine transformation of the percentage seed colonization data).

For comparing the effects of fields (locations), drying treatments and their interactions on the seed colonization of 64 genotypes, the data obtained from two fields were pooled since the error variances estimated from separate analyses of the data showed no significant differences [Cochran and Cox, 1957]. The analysis of variance was carried out on the basis of the pooled data with arc-sine transformed values.

**RESULTS**

**Effect of season on seed colonization of 10 genotypes :** data on percent seed colonization were analysed using arc-sine transformed values. Results of the effect of season on *in vitro* percent seed colonization by *A. flavus* of ten groundnut genotypes are presented in Table II. *In vitro* seed colonization of genotypes differed significantly between rainy and post rainy seasons but there were no significant differences between the years. The levels of seed colonization on all the ten genotypes were higher on seed from postrainy season crops than on seed from rainy season crops. Highly significant differences occurred between genotypes ; UF 71513, PI 337394 F, PI 337409 and J11 showed significantly less seed colonization than the other genotypes.

**Effects of season, field location and windrow drying treatments on *in vitro* seed colonization by *A. flavus* of**

**TABLE II. — Effect of season on seed colonization of 10 groundnut genotypes by :**  
(Influence de la saison sur la colonisation des graines de 10 génotypes d'arachide par : ) *Aspergillus flavus*

Genotypes	Percentage of seeds colonized by (p. 100 de colonisation de la graine par) <i>A. flavus</i> (1)				Mean (Moyenne)
	Rainy seasons (saisons des pluies)		Postrainy seasons (Saisons sèches)		
	1979	1980	1979/80	1980/81	
UF 71513	7.9	6.6	13.1	14.2	10.5
PI 337394 F	7.3	8.1	19.9	19.5	13.7
PI 337409	12.8	9.5	20.8	21.0	16.0
J11	9.9	12.1	21.8	17.5	15.3
M13	27.1	24.6	37.1	41.3	32.5
Robut 33-1	27.0	25.2	36.7	44.1	33.3
TMY2	34.8	36.7	49.5	41.5	40.6
EC 76446 (292)	35.7	38.5	45.1	60.7	45.0
Krapovickas Strain # 16	75.8	54.8	96.8	87.0	78.6
OG 43-4-1	95.0	91.2	96.9	98.2	95.3

(1) Arc sine transformation used for analysis (Analyse effectuée avec la transformation angulaire de l'arc-sinus).

**TABLE III : Effects of season, field location and windrow drying treatments on *in vitro* seed colonization by *A. flavus* of 64 genotypes — 1980/81 postrainy season and 1981 rainy season**

(Effets de la saison, de la localisation et du séchage en andains sur la colonisation *in vitro* des graines de 64 génotypes d'arachide par *A. flavus* — Saison sèche 1980/81 et saison des pluies 1981)

ICG No.	Identity (Identité)	Postrainy season (saison sèche) 1980/81				Rainy season (saison des pluies) 1981			
		Field (champs) Alfisol		Field (champs) Inceptisol		Field (champs) Alfisol		Field (champs) Inceptisol	
		24 hr W.D.T. (1)	48 hr W.D.T.	24 hr W.D.T.	48 hr W.D.T.	48 hr W.D.T.	96 hr W.D.T.	48 hr W.D.T.	96 hr W.D.T.
2031	Ah 3533	17.9*	23.1	21.7	25.4	23.2	19.7	18.8	18.4
5635	Ah 6715	24.9	31.7	28.7	34.2	34.9	36.7	23.3	22.0
4043	Ah 6738	20.5	28.2	28.9	36.7	30.8	23.5	28.7	22.6
4866	Ah 7013	19.2	26.3	19.7	26.8	26.1	25.7	19.0	20.9
4799	Ah 7202	19.9	23.9	18.1	20.9	22.3	19.1	19.9	22.1

(à suivre)

ICG No.	Genotypes Identity (Identité)	Post-rainy season (saison sèche) 1980/81				Rainy season (saison des pluies) 1981			
		Field (champs) Alfisol		Field (champs) Inceptisol		Field (champs) Alfisol		Field (champs) Inceptisol	
		24 hr W.D.T (1)	48 hr W.D.T	24 hr W.D.T.	48 hr W.D.T	48 hr W.D.T.	96 hr W.D.T	48 hr W.D.T.	96 hr W.D.T.
<i>(suite)</i>									
3700	Ah 7223	8.6	15.8	13.6	16.2	15.6	15.8	14.9	13.4
2051	Ah 7299	18.6	24.0	21.1	32.3	32.7	28.7	29.6	23.8
1277	Ah 7319	27.9	30.8	21.5	36.2	20.9	22.2	19.5	17.1
2056	Ah 7336	27.0	39.7	32.8	34.6	30.9	24.6	22.2	23.8
1289	Ah 7984	20.6	27.0	25.6	29.3	25.9	22.4	20.2	22.4
4551	Ah 8068	20.7	27.0	20.6	22.9	22.2	18.8	28.8	26.8
846	Cion	31.4	39.4	34.8	37.1	40.8	26.4	30.1	26.5
4562	C 55-437	15.4	23.8	15.7	20.6	22.0	16.0	13.4	14.9
1904	C. No 677	28.8	25.5	25.8	32.8	36.9	33.3	21.6	22.0
2601	C. No 501	20.8	30.0	22.4	31.6	29.9	34.5	22.8	26.6
4589	Exotic 2	16.4	24.4	17.7	21.3	19.4	16.8	13.2	18.8
3331	Exotic 3-5	23.4	37.2	21.8	26.1	21.0	15.6	21.7	19.4
3336	Exotic-6	26.0	33.9	18.9	27.9	23.7	15.4	20.0	20.0
3621	EC 20695	20.1	25.5	28.9	33.9	23.3	19.5	15.4	17.7
1849	EC 24419	26.2	31.1	29.8	34.8	24.4	26.5	20.9	21.3
3316	EC 27446	27.6	34.7	32.3	38.1	27.1	23.1	24.3	26.7
2716	EC 76446 (292)	39.3	49.3	36.4	44.6	38.7	36.2	32.9	29.8
1949	EC 264743	42.6	54.3	34.3	44.3	35.7	33.6	25.0	25.6
3008	Early Runner	18.8	26.5	21.5	29.9	20.7	17.8	21.3	21.0
2224	Faizpur	16.9	20.8	12.4	16.2	16.3	14.3	15.6	14.9
4590	Florigiant	21.1	25.6	25.0	29.3	30.9	21.1	19.3	18.9
4593	GFA Spanish	20.6	28.0	24.3	32.1	32.7	26.8	17.1	16.5
1326	J 11	8.4	11.3	10.4	13.2	15.4	15.4	11.3	13.3
4790	K Strain No. 16	54.3	74.4	43.9	52.9	44.8	42.8	47.3	48.3
3388	KG 61-240	28.9	26.6	19.0	29.0	25.1	23.9	17.1	17.1
3391	Khandesh-2	20.9	26.4	21.0	24.1	28.7	19.7	17.3	19.0
3400	Local-3	36.7	49.2	26.4	30.4	28.1	24.3	18.9	18.5
156	M 13	28.4	36.5	25.0	29.5	25.8	22.0	24.7	28.4
2800	Monur 240-30	12.3	14.4	14.6	18.3	21.4	17.3	16.4	15.4
3424	NG 387	16.5	22.2	29.7	35.6	27.4	25.5	19.4	18.8
6090	NC Ac 664	22.3	28.9	35.0	40.5	31.5	27.1	21.6	25.9
316	NC Ac 688	29.1	34.5	35.8	41.9	28.0	24.2	18.6	25.3
2288	NC Ac 841	18.9	17.6	15.6	20.7	27.5	16.6	18.9	19.9
6812	NC Ac 2592	20.9	25.9	30.1	36.2	31.2	25.2	26.6	25.4
1881	Pircom	35.8	43.4	35.6	36.1	33.8	27.1	25.5	26.7
4748	PI 337394F	11.8	19.0	13.3	15.3	16.7	13.8	13.3	11.9
4750	PI 337409	9.8	15.4	14.4	20.5	10.8	10.3	13.2	13.1
	RMP-12	42.3	45.9	37.9	47.2	46.9	39.8	33.0	30.1
799	Robut 33-1	27.8	35.9	31.9	38.2	33.0	29.4	28.9	30.8
3469	Sir of Bizapur	17.4	30.7	23.8	29.0	29.6	23.8	22.7	22.0
4770	Shantung Ku No. 203	42.0	61.0	47.3	55.1	43.2	37.6	32.4	43.1
4660	Tifon 1134	18.7	22.9	23.8	26.2	26.2	21.5	20.8	18.9
221	TMV 2	32.1	43.3	33.9	44.1	34.2	34.2	25.2	37.0
200	S 196	25.1	24.4	24.2	31.2	29.4	22.8	24.4	24.1
4528	U-1-2-1	41.3	43.3	37.4	52.0	50.8	43.3	33.1	32.1
1435	U-4-4-23	14.9	21.6	19.1	21.6	24.6	22.7	19.7	25.1
4699	U-4-3-25	18.8	26.2	18.6	22.0	37.1	31.4	23.3	21.2
1452	U-4-12-3	17.4	25.5	27.6	34.8	29.4	24.3	17.3	21.7
4672	U-4-4-1	29.2	35.5	37.3	52.4	40.7	40.3	21.6	22.7
	Gangapuri	26.9	36.2	26.8	32.0	38.3	36.4	22.4	25.8
1393	U-2-1-26	18.0	25.5	21.4	25.3	28.1	22.4	14.3	15.7
3263	U-4-4-7	15.8	23.3	19.5	24.8	17.9	17.1	18.6	18.2
4601	Var. 27	11.7	20.9	15.9	17.3	18.2	17.7	14.9	15.0
2902	No. 42-9	13.6	25.0	18.1	26.8	23.3	18.7	19.7	18.8
3556	No. 26-9-2	26.7	28.3	23.5	26.9	25.9	21.9	21.1	15.5
	FESR-12-P5-B1-B1	87.4	93.0	71.6	81.1	92.9	90.5	71.4	67.3
	FESR-12-P6-B1-B1	96.1	97.0	68.9	86.2	93.5	94.2	78.5	75.9
	319 of Russia	27.4	32.3	23.5	28.9	32.5	30.7	34.2	30.7
	AK-10-24	23.0	28.6	20.2	26.3	29.7	28.3	26.1	24.8
Mean (Moyenne)		25.7	32.4	26.5	32.8	30.5	26.8	23.6	24.0

(1) W.D.T. = windrow drying treatment (séchage en andains).

(\*) P. 100 seed colonized (de graines colonisées).

# S.E. (ET) ±

# S.E. (ET) ±

Fields (champs) ..... 0.06  
Drying treatments (séchage) ..... 0.15  
Genotypes ..... 0.85

0.37  
0.12  
0.71

# SE values are based on arc sin transformed values (Les valeurs de l'écart-type sont calculées d'après les valeurs données par la transformation angulaire de l'arc sinus).

64 genotypes : results on effects of season, field location and windrow drying treatments on *in vitro* seed colonization by *A. flavus* of 64 genotypes are presented in Table III.

In the 1980/81 postrainy season there were highly significant differences between the 24 h and 48 h windrow drying treatments in respect of percent seed colonization ; the longer period (48 h) of windrow drying significantly increased *in vitro* seed colonization with *A. flavus* in 60 genotypes in the alfisol field and in all 64 genotypes in the inceptisol field. There were also significant interactions between genotypes and fields. There were no significant interactions between fields and drying treatments.

In the 1981 rainy season drying treatments again significantly influenced *in vitro* seed colonization with *A. flavus* but in some genotypes the 48 h drying treatment increased the levels of colonization whereas in other genotypes the 96 h drying treatment increased colonization levels. In the alfisol field 53 of the genotypes showed significantly higher levels of seed colonization with 48 h drying as compared to that with 96 h drying treatment ; however, the magnitude of increase in colonization was quite low. Of 64 genotypes only 5 showed higher levels of seed colonization with 96 h drying than with 48 h drying treatment. In inceptisol field, 26 of the 64 genotypes recorded significantly higher levels of seed colonization with 48 h drying than with 96 h drying treatment while 24 genotypes showed higher levels of seed colonization with 96 h drying treatment.

The two fields differed significantly in respect of percent seed colonization of the genotypes. Significant interactions (0.05 level) were also found between fields and cultivars.

## DISCUSSION

Most of the interest in the 'seed resistance' in groundnut genotypes has been in relation to their use to reduce *A. flavus* invasion and aflatoxin contamination in wetted stored seed [Mixon and Rogers, 1973 ; Mehan *et al.*, 1981]. Several reports have shown the inherent ability of certain genotypes to resist seed invasion and colonization by toxigenic strains of *A. flavus* [Mixon and Rogers, 1973 ; Mixon, 1979 ; Mehan *et al.*, 1981 ; Zambettakis *et al.*, 1981]. Bartz *et al.* [1978] reported that resistance in groundnut seed to *A. flavus* colonization was an extremely variable characteristic. In fact, some shifts in susceptibility of a few cultivars to seed colonization by *A. flavus* were marked. They noted that changes in the harvest date, production location and curing method were associated with significant changes in susceptibility about 50 p. 100 of the time. Early reports [Mixon and Rogers, 1973 ; Bartz *et al.*, 1976 ; Mehan *et al.*, 1981 ; Zambettakis *et al.*, 1977] and in the present investigations, the genotypes UF 71513, PI 337394 F, PI 337409 and J 11 showed significantly less seed colonization than other cultivars tested. However, the levels of seed colonization on all the cultivars tested were higher on seed from the postrainy season crop than on seed from the rainy season crop. This confirmed our earlier observation [Mehan and McDonald, 1981]. High temperatures during post-harvest drying of the irrigated postrainy season crop could damage seed testa contributing to increased levels of seed colonization [Mehan and McDonald, 1981].

In the rainy season trial the two drying treatments did produce significantly different effects upon subsequent

TABLE IV. — Rainfall, relative humidity, temperature and sunshine during the period 5 days before harvest and 5 days after harvest of the groundnut crop during the rainy and postrainy seasons

(Pluviométrie, humidité relative, températures et ensoleillement, 5 jours avant et 5 jours après la récolte de l'arachide pendant la saison des pluies et la saison sèche).

Season (Saison)	Rain (Pluie)	Average temperatures (Températures moyennes)		Average R.H. (Humidité relative moyenne)		Sunshine (Ensoleillement, (h)
		Max. (°C)	Min.	M	AN (%)	
<b>Rainy (Saison des pluies) 1979</b>						
A	58.3	28.1	21.4	89.8	69.6	0.5
B	0	30.9	21.3	85.6	52.8	7.8
<b>Rainy (Saison des pluies) 1980</b>						
A	0	32.2	21.8	81.8	42.8	8.9
B	0	32.8	18.1	78.0	30.2	10.2
<b>Rainy (Saison des pluies) 1981</b>						
A	42.0	28.5	22.2	90.4	74.0	3.4
B	37.3	26.5	22.0	93.4	68.0	5.7
<b>Postrainy (Saison sèche)</b>						
<b>1979/80</b>						
A	0	35.3	22.3	75.6	33.6	9.5
B	0	39.1	24.0	55.2	29.2	10.2
<b>Postrainy (Saison sèche)</b>						
<b>1980/81</b>						
A	0	35.8	23.9	67.0	20.6	10.2
B	0	37.3	23.9	58.8	24.4	8.8

A = before harvest (avant récolte).  
B = after harvest (après récolte).

reaction to seed colonization by *A. flavus* in some genotypes but the differences were not so marked as for the postrainy season. The longer drying period (96 h) led to greater seed colonization in some genotypes while the shorter drying period (48 hrs) increased colonization in others. Till we investigate the effect of environment on seed testa characteristics it is difficult to explain these differences among genotypes.

Temperatures were relatively higher during the harvesting of the postrainy season crop (Max. 38.6 °C, Min. 23.9 °C) as compared to rainy season crop (Max. 26.5 °C, Min. 22.0 °C). There were also marked differences in relative humidity (av. 41.6 vs 80.7 p. 100), sunshine (9.8 h/day vs. 5.7 h/day), and solar radiation (615 cal/cm. sq./day vs 508 cal/cm sq./day) between the postrainy and rainy seasons (Table IV). Under the postrainy season conditions, groundnuts dried within 48 hr in the field to a moisture content of 6-8 p. 100 whereas in the rainy season it took more than 72 h to dry the seeds to a moisture content of 11-14 p. 100. Rapid drying within a short period can result in weakened seed testa, increased damage to seed testa and also testa slippage [Dickens and Pattee, 1973 ; Woodward, 1973]. Groundnut cultivars grown and cured under common environments differ in

respect of maintenance of testa integrity at varied drying temperatures [Glueck *et al.*, 1977]. In the present investigation also windrow drying for a longer period of 48 h in the postrainy season resulted in higher percentage of seed colonized by *A. flavus* in all the cultivars compared to that in 24 h windrow drying treatment.

In all reported cases of mature dried groundnut seed resisting colonization by *A. flavus* the protective role of the seed testa has been emphasized [Dieckert and Dieckert, 1977 ; Mixon and Rogers, 1975]. If the testa is damaged this results in reduction or loss of resistance to seed invasion by the fungus [Mixon and Rogers, 1975]. The maximum advantage that can be derived from groundnut cultivars resistant to *A. flavus* will occur only if the seed testa is not damaged during cultivations, harvesting, curing or storage. Therefore, cultivars with a resistance mechanism of this kind will be of more benefit under conditions where little or no damage is done to the seed testa. We conclude that any resistance to *A. flavus* seed colonization associated with seed testa would probably vary somewhat with crop season, production location and field drying conditions. There is a need to test and confirm the resistance of certain genotypes under wider agroecological conditions.

## RÉSUMÉ

Effets de la saison de culture, de la localisation et du mode de séchage au champ sur la colonisation *in vitro* des graines de différents génotypes d'arachide par *Aspergillus flavus*.

V. K. MEHAN, D. McDONALD et B. LALITHA, *Magineux*, 1983, 38, N° 10, p. 553-559.

Le niveau de colonisation de la graine de 10 génotypes d'arachide par *Aspergillus flavus* est significativement plus élevé pour les récoltes des saisons sèches 1979-1980 et 1980-1981 que pour celles des saisons des pluies 1979 et 1980. 64 génotypes d'arachide ont fait l'objet de tests de résistance à la colonisation de la graine par *A. flavus* pour des saisons de cultures, des localisations des champs et des durées de séchage différentes. Le niveau de colonisation de la graine des différents génotypes est apparu plus élevé pour les graines de la récolte de la saison sèche 1980-1981 que pour celles de la récolte de la saison des pluies 1981. Un séchage en andains d'une durée de 48 h a donné pour la récolte de la saison sèche des pourcentages de colonisation de la graine significativement plus élevés qu'un séchage d'une durée de 24 h. On a observé des interactions significatives entre les génotypes et la localisation des champs pour la récolte de la saison des pluies comme pour celle de la saison sèche. Le niveau de colonisation de la graine par *A. flavus* peut être influencé par la saison de culture, la localisation des champs et le mode de séchage après récolte.

## RESUMEN

Efectos de la época de cultivo, de la localización y de la forma de secado en el campo, en la colonización *in vitro* de las semillas de diversos genotipos de maní por *Aspergillus flavus*.

V. K. MEHAN, D. Mc DONALD y B. LALITHA, *Magineux*, 1983, 38, N° 10, p. 553-559.

El nivel de colonización de la semilla de 10 genotipos de maní por *Aspergillus flavus* es significativamente más alto para las cosechas de los periodos secos 1979-1980 y 1980-1981 que para las de los periodos de lluvias 1979 y 1980. 64 genotipos de maní se sometieron a pruebas de resistencia a la colonización de la semilla por *Aspergillus flavus* para épocas de cultivo, ubicación de los campos y duraciones de secado distintas. El nivel de colonización de la semilla de los diversos genotipos resultó más alto para las semillas de la cosecha del periodo seco 1980-1981 que para las de la cosecha del periodo de lluvias 1981. Un secado en gavillas durante 48 horas dió para la cosecha de la temporada seca porcentajes de colonización de la semilla significativamente más altos que un secado durante 24 horas. Se ha observado interacciones significativas entre los genotipos y la ubicación de los campos para la cosecha del periodo de las lluvias y también para la del periodo seco. El nivel de colonización de la semilla por *A. flavus* puede sufrir la influencia del periodo de cultivo, de la ubicación de los campos y de la forma de secado después de la cosecha.

## REFERENCES

- [1] BARTZ J. A., NORDEN A. J., LAPRADE J. C. and DEMUYNE T. J. (1978). — Tolerance to colonization by *Aspergillus flavus* found in certain peanut (*Arachis hypogaea* L.) breeding lines and cultivars. *Proc. Am. Peanut Res. Educ. Assoc.*, 8, 94 (Abstr.).
- [2] BARTZ J. A., NORDEN A. J., LAPRADE J. C. and DEMUYNE T. J. (1978). — Seed tolerance in peanuts (*Arachis hypogaea* L.) to members of the *Aspergillus flavus* group of fungi. *Peanut Sci.*, 5, p. 33-36.
- [3] COCHRAN, W. G. and COX, G. M. (1957). — *Experimental Design*, 2nd ed., John Wiley, N. Y. (U.S.A.).
- [4] DICKENS J. W. and PATTEE J. E. (1973). — Peanut mating and post-harvest physiology. p. 389-422. In Wilson C. T. (ed.)
- Peanuts—culture and uses. *Am. Peanut Res. Educ. Assoc.* Stillwater, Okla. (U.S.A.).
- [5] DIECKERT M. C. and DIECKERT J. W. (1977). — Genetically determined structural parameters of the seed coat affecting the colonization of peanut seeds by aflatoxin producing *Aspergillus*. *Ann. Technol. agric.*, 26, N° 2, p. 253-266.
- [6] GLUECK J. A., CLARK L. E. and SMITH D. D. (1977). — Yield comparisons of four peanut cultivars. *Crop. Sci.*, 17, p. 777-782.
- [7] MEHAN V. K. and McDONALD D. (1980). — Screening for resistance to *Aspergillus flavus* invasion and aflatoxin production in groundnuts. *ICRISAT Groundnut Improvement Program*, occasional paper-2, 1-15.

- [9] MEHAN V. K. and McDONALD D. (1981) — Aflatoxin production in groundnut cultivars resistant and susceptible to seed by *Aspergillus flavus*. Proc. International symposium on Aflatoxins, Cairo, Egypt, 6-8 September, 1981 (in press).
- [10] MEHAN V. K., McDONALD D., NIGAM S. N. and LALITHA B. (1981). — Groundnut cultivars with seed resistant to invasion by *Aspergillus flavus* (bilingue angl.-fr.). *Oligoneux*, 36, N° 10, p. 501-507.
- [11] MIXON A. C. (1979) — Developing groundnut lines with resistance to colonization by toxin-producing strains of *Aspergillus species*. *PANS*, 25, p. 394-400.
- [12] MIXON A. C. and ROGERS K. M. (1973) — Peanut accessions resistant to seed infection by *Aspergillus flavus*. *Agron. J.*, 65, p. 560-562.
- [13] MIXON A. C. and ROGERS K. M. (1975) — Factors affecting *Aspergillus flavus* Link. et Fr. Colonization of resistant and susceptible genotypes of *Arachis hypogaea* L. *Peanut Sci.*, 2, p. 10-22.
- [14] WOODWARD J. D. (1973) — The relationship of milling quality to kernel tensile strength. *Proc. Am. Peanut Res. Educ. Assoc.*, 5, p. 169-176.
- [15] ZAMBETTAKIS C., BOCKELÉE-MORVAN A., WALIYAR F. et ROSSION J. (1977) — Différences variétales de sensibilité de l'arachide à la contamination par *A. flavus* aux champs et en conditions artificielles (bilingue fr.-angl.). *Oligoneux*, 32, N° 8-9, p. 377-383.
- [16] ZAMBETTAKIS C., WALIYAR F., BOCKELÉE-MORVAN A. et PINS O. de (1981) — Résultats de quatre années de recherches sur la résistance de variétés d'arachide à *Aspergillus flavus* (bilingue fr.-angl.). *Oligoneux*, 36, N° 7, p. 377-385.

## Effets de la saison de culture, de la localisation et du mode de séchage au champ sur la colonisation *in vitro* des graines de différents génotypes d'arachide par *Aspergillus flavus* (1)

V. K. MEHAN, D. McDONALD et B. LALITHA (2)

Il est possible de réduire la contamination par l'aflatoxine en utilisant des cultivars d'arachide résistants à l'invasion et à la colonisation de la graine par des souches toxicogènes d'*Aspergillus flavus* [Mixon et Rogers, 1973; Mehan *et al.*, 1981]. Plusieurs génotypes, parmi lesquels le cultivar indien vulgarisé J11, sont connus pour leur résistance à cette colonisation [Mixon et Rogers, 1973; Zambettakis *et al.*, 1981; Mehan et McDonald, 1981]. Mehan et McDonald [1981] ont rapporté que le niveau de colonisation des graines réhydratées d'un certain nombre de cultivars était plus élevé pour les graines de la récolte de saison sèche que pour celles de saison des pluies. Cet article traite des effets de la saison de culture, de la localisation des champs et de la durée du séchage en andains sur la colonisation de graines saines et mûres, séchées et réhydratées de plusieurs génotypes d'arachide par une souche toxicogène de *A. flavus*.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

**Lieu de l'expérience :** tous les essais se sont déroulés à la ferme du centre ICRISAT, à Patancheru (17°3' de latitude N ; 78°16' de longitude E ; altitude : 541 m), à proximité de Hyderabad (Inde).

**Essais aux champs :** six essais aux champs ont eu lieu entre 1979 et 1981. Le tableau 1 donne les détails concernant la saison, le type de sol, les dates des semis et des récoltes ainsi que le nombre de génotypes.

(1) Article de revue n° 200 présenté par the International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT), Patancheru, P.O. 502 324, A.P. (Inde).

(2) Programme d'amélioration de l'arachide, ICRISAT, Patancheru, P.O. 502 324, A.P. (Inde).

#### 1. — Essai sur 10 génotypes, pendant 4 saisons (2 saisons des pluies, 2 saisons après-pluies).

Dix génotypes ont été cultivés selon un dispositif de blocs randomisés avec 3 répétitions. Chaque parcelle, de 9 m de long sur 3,75 m de large, comportait 5 billons espacés de 75 cm sur lesquels on a effectué des semis de 1 graine tous les 15 cm. Les méthodes de culture recommandées ont été appliquées. On a irrigué quand cela a été nécessaire pour éviter le stress de la sécheresse. Les génotypes ont été récoltés à maturité et les plants disposés en andains retournés pour sécher au champ. Après ce séchage en andains de 3 jours pour les récoltes de la saison des pluies et de 2 jours pour celles de la saison sèche, les arachides ont été égoussées à la main et séchées à l'ombre, jusqu'à ce que le pourcentage d'humidité des graines soit ramené à 6-7 p. 100. Les gousses séchées ont alors été stockées dans des sacs de toile, à la température, jusqu'au moment des tests.

#### 2. — Essai sur 64 génotypes pendant 2 saisons (1 des pluies et 1 saison après-pluies).

Soixante-quatre génotypes ont été cultivés (dispositif en triple lattice 8 x 8) dans deux champs, l'un alléial, l'autre inceptif, pendant deux saisons. La taille des parcelles, l'espacement des plants et les méthodes de culture étaient les mêmes que ceux décrits précédemment. Après arrachage, les plants ont été séchés en andains retournés. On a eu recours à deux types de séchage : de 24 et 48 h pour la récolte de la saison sèche 1980/81, et de 48 et 96 h pour la récolte de la saison des pluies 1981. Après séchage en andains retournés, les arachides ont été égoussées à la main, séchées et stockées comme décrit précédemment.

Tous les protocoles de tests de résistance à la colonisation par *A. flavus* ont été réalisés avec des graines mûres et intactes provenant des gousses stockées, selon la méthode de

Mixon et Rogers [1973], modifiée par Mehan et McDonald [1980]. Chaque essai a porté sur un lot de 20 g de graines (préalablement stérilisées en surface avec une solution de chlorure mercurique à 1 p. 100) et provenant de chaque parcelle avec répétition pour chaque génotype. Chaque échantillon a été réhydraté à l'aide d'eau stérile pour obtenir un taux d'humidité de 20 p. 100. Les graines réhydratées ont été placées dans des boîtes de Petri stériles, et inoculées en surface avec 1 ml d'une suspension de spores ( $4 \times 10^6$  spores/ml) de la souche toxigène de *A. flavus* Af 8-3-2A cultivée depuis 8 jours. Les boîtes ont été placées en incubation à 25 °C et le pourcentage de graines colonisées a été relevé huit jours plus tard.

Une analyse groupée pour les deux années et les deux saisons a permis de comparer les effets de la saison de culture sur la colonisation *in vitro* des 10 génotypes (les variances d'erreur ont été trouvées homogènes avec la transformation angulaire de l'arc sinus des données du pourcentage de colonisation des graines).

Pour comparer les effets de la localisation des champs, du séchage et de leurs interactions sur la colonisation des graines de 64 génotypes, les données obtenues pour les deux champs ont été groupées, car les variances d'erreur des analyses séparées des données ne donnaient aucune différence significative [Cochran et Cox, 1957]. L'analyse de variance a été faite avec la transformation angulaire de l'arc sinus des valeurs des données groupées.

## RÉSULTATS

**Effet de la saison de culture sur la colonisation des graines de 10 génotypes :** la transformation angulaire de l'arc sinus a permis d'analyser les données du pourcentage de colonisation de la graine. Le tableau II donne les résultats de l'effet de la saison de culture sur le pourcentage de colonisation *in vitro* de la graine de 10 génotypes par *A. flavus*. On peut observer des différences significatives entre les saisons de culture (saison des pluies, saison sèche) sur la colonisation *in vitro* des graines des génotypes, mais pas entre les années. Le niveau de colonisation des graines des 10 génotypes était plus élevé pour les graines des récoltes des saisons sèches que pour les graines des saisons des pluies. On a observé des différences hautement significatives entre les génotypes ; UF 71513, PI 337394 F, PI 337409 et J11 ont manifesté des pourcentages de colonisation significativement moins élevés que les autres génotypes.

**Effets de la saison de culture, de la localisation des champs et du mode de séchage en andains sur la colonisation *in vitro* des graines de 64 génotypes par *A. flavus* :** le tableau III donne les résultats des effets de la saison de culture, de la localisation et du séchage en andains sur la colonisation *in vitro* des graines de 64 génotypes par *A. flavus*.

Pour la récolte de la saison sèche 1980-1981, on a enregistré des différences hautement significatives entre les pourcentages de colonisation de la graine selon que le séchage en andains a duré 24 ou 48 h. Le séchage en andains de 48 h, le plus long, a eu pour résultat une augmentation significative du pourcentage de colonisation *in vitro* de la graine par *A. flavus*, pour 60 génotypes cultivés dans le champ alfisol, et pour les 64 génotypes du champ inceptisol. On a également noté des interactions significatives entre les génotypes et la localisation, mais pas entre la localisation et le séchage.

Pour la récolte de la saison des pluies 1981, la durée du séchage a de nouveau donné des résultats significatifs sur la colonisation *in vitro* des graines d'arachide par *A. flavus* mais, pour certains génotypes, on a enregistré un pourcentage de colonisation élevé après un séchage de 48 h alors que, pour d'autres, ce pourcentage était plus élevé après un séchage de 96 h. Dans le champ alfisol, 53 génotypes ont manifesté un niveau de colonisation significativement plus élevé pour le séchage de 48 h que pour le séchage de 96 h. Cependant, l'augmentation était relativement faible. Seuls, 5 des 64 génotypes ont manifesté un niveau de colonisation plus élevé après un séchage de 96 h qu'après un séchage de 48 h. Dans le champ inceptisol, 26 des 64 génotypes ont enregistré un niveau de colonisation de la graine significativement plus élevé après un séchage de 48 h qu'après un séchage de 96 h, alors que 24 génotypes ont manifesté un niveau de colonisation de la graine plus élevé après un séchage de 96 h.

On a observé des différences significatives entre les deux champs pour le pourcentage de colonisation des graines des différents génotypes. On a également noté des interactions significatives (à 5 p. 100) entre les champs et les cultivars.

## DISCUSSION

La résistance des graines des génotypes d'arachide présente un intérêt particulier pour réduire l'invasion par *A. flavus* et la contamination par l'aflatoxine des graines humides stockées [Mixon et Rogers, 1973 ; Mehan et al., 1981]. Plusieurs travaux ont fait état de l'aptitude de certains génotypes à résister à l'invasion de la graine et à sa colonisation par des souches toxigènes de *A. flavus* [Mixon et Rogers, 1973 ; Mixon, 1979 ; Mehan et al., 1981 ; Zambetakis et al., 1981]. Selon Bartz et al. [1978], l'aptitude des graines d'arachide à résister à la colonisation de *A. flavus* est très variable. En réalité, cette aptitude de certains cultivars varie sensiblement en fonction de certains facteurs. Ils ont rapporté que des différences dans les dates de récolte, la localisation et le mode de séchage pouvaient modifier significativement cette aptitude à la résistance dans 50 p. 100 des cas. Des travaux plus anciens [Mixon et Rogers, 1973 ; Bartz et al., 1976 ; Mehan et al., 1981 ; Zambetakis et al., 1977] et les recherches actuelles sur les génotypes UF 71513, PI 337394 F, PI 337409 et J11 ont montré que ces derniers manifestent des niveaux de colonisation de la graine significativement moins élevés que d'autres cultivars. Cependant, les niveaux de colonisation des graines de tous les cultivars testés étaient plus élevés pour les graines de la récolte de la saison sèche que pour celles de la saison des pluies. Ceci confirme nos observations antérieures [Mehan et McDonald, 1981]. Les téguments des graines peuvent être endommagés pendant les fortes chaleurs de la période du séchage de la récolte de la saison sèche qui a nécessité une irrigation, ce qui implique l'élévation du niveau de colonisation de la graine [Mehan et McDonald, 1981].

Pour la récolte de la saison des pluies, on a obtenu des résultats significativement différents sur la colonisation postérieure des graines de certains génotypes par *A. flavus*, selon la durée du séchage, mais les différences étaient beaucoup moins marquées que pour la récolte de la saison sèche. Certains génotypes enregistrent des niveaux de colonisation de la graine plus élevés après un séchage plus long (de 96 h), d'autres après un séchage plus court (48 h). Il est difficile d'expliquer de telles différences entre les génotypes en l'absence d'une étude sur les conséquences de l'environnement sur les caractéristiques du tégument de la graine.

Les températures étaient relativement plus élevées pendant la récolte des arachides de la saison sèche (maximum : 38,6 °C, minimum : 23,9 °C) que celles enregistrées pendant la récolte de la saison des pluies (maximum : 26,5 °C, minimum : 22 °C). On a également enregistré des différences notables pour l'humidité relative (41,6 p. 100 en moyenne, contre 80,7 p. 100), l'ensoleillement (9,8 h/jour, contre 5,7 h/jour), et le rayonnement solaire (615 cal/cm<sup>2</sup>/jour, contre 508 cal/cm<sup>2</sup>/jour) entre la saison sèche et la saison des pluies (Tabl. IV). A la saison sèche, 48 h de séchage au champ suffisaient pour réduire le taux d'humidité de la graine à 6-8 p. 100, alors qu'à la saison des pluies, il fallait plus de 72 h pour ramener le taux d'humidité de la graine à 11-14 p. 100. Un séchage rapide peut avoir pour conséquences l'affaiblissement du tégument de la graine, l'augmentation des dégâts qui lui sont causés, et même le dépelliculage de ce tégument [Dickens et Pattee, 1973 ; Woodward, 1973]. Les conséquences de températures plus ou moins élevées pendant la période du séchage sur l'intégrité du tégument de la graine varient selon le cultivar, à des conditions de culture et de séchage identiques [Glueck et al., 1977]. Cette expérience a permis de noter que pendant la saison sèche, un séchage en andains de 48 h, plus long, a eu pour résultat un pourcentage de colonisation de la graine par *A. flavus* plus élevé que le séchage de 24 h, pour tous les cultivars.

Chaque fois que l'on traite de la résistance de la graine d'arachide mûre et sèche à la colonisation par *A. flavus*, l'accent est mis sur le rôle protecteur joué par le tégument de la graine [Dieckert and Dieckert, 1977 ; Mixon et Rogers, 1975]. Lorsque le tégument est abîmé, la graine ne résiste plus, ou mal, à l'invasion par le champignon [Mixon et Rogers, 1975]. La résistance de la graine d'un cultivar d'arachide à *A. flavus* est à son maximum lorsque le tégument de cette graine ne subit aucun dégât pendant la culture au champ, la récolte, le séchage ou le stockage. Donc, les cultivars possédant cette caractéristique de résistance seront exploités avec davantage de profit si aucun dommage n'est causé au tégument de la graine. En conclusion, nous pouvons dire que la résistance à la colonisation de la graine par *A. flavus* en fonction du tégument varie probablement selon la saison de culture, la localisation et le mode de séchage au champ. La résistance de certains génotypes en fonction des conditions agro-écologiques n'a pas besoin d'être testée ni confirmée davantage.