



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA –
CITA



**IDENTIFICAÇÃO DE ISOLADOS DE *FUSARIUM*
ENCONTRADOS EM GRÃOS DE MILHO DURANTE O
ARMAZENAMENTO EM SILOS NO ESTADO DO ACRE**

ROMAÍNA IDAYARA SILVA DE ARAÚJO

RIO BRANCO, AC
SETEMBRO/2021

ROMAÍNA IDAYARA SILVA DE ARAÚJO

**IDENTIFICAÇÃO DE ISOLADOS DE *FUSARIUM*
ENCONTRADOS EM GRÃOS DE MILHO DURANTE O
ARMAZENAMENTO EM SILOS NO ESTADO DO ACRE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências e Inovação Tecnológica**.

Orientador: Prof. Dr. Josimar Batista Ferreira

Co-orientadora: Profa. Dra. Leila Priscila Peters

RIO BRANCO, AC
SETEMBRO/2021

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

A663i Araújo, Romáina Idayara Silva de, 1987- .
Identificação de isolados de *Fusarium* encontrados em grãos de milho durante o armazenamento em silos no Estado do Acre / Romáina Idayara Silva de Araújo. – 2021.
71f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia da Amazônia, Mestrado em Ciências e Inovação Tecnológica. Rio Branco, Acre, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Josimar Batista Ferreira.

Coorientação: Profa. Dra. Leila Priscila Peters.

Inclui referências e anexos.

1. *Fusarium*. 2. Fungos toxigênicos. 3. Silos - Acre - Brasil. 4. Milho. I. Ferreira, Josimar Batista (orientador). II. Peters, Leila Priscila (coorientadora). III. Universidade Federal do Acre. CITA. IV. Título.

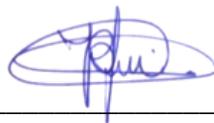
CDD: 509

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E
TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – CITA

IDENTIFICAÇÃO DE ISOLADOS DE *FUSARIUM*
ENCONTRADOS EM GRÃOS DE MILHO DURANTE O
ARMAZENAMENTO EM SILOS NO ESTADO DO ACRE

ROMAÍNA IDAYARA SILVA DE ARAÚJO

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 24 de setembro de 2021



DR. JOSIMAR BATISTA FERREIRA
UFAC



DR. MAURO JORGE RIBEIRO
UFAC



DR. FÁBIO AUGUSTO GOMES
UFAC

À memória de meu avô e pai de coração,
Francisco Rodrigues da Silva.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço e rendo graças àquele que esteve comigo em cada etapa, processo e que me cuidou e sustentou até aqui, pois sem Ele eu nada posso fazer, a Deus.

Agradeço a minha família por entender e apoiar meus projetos e sonhos, em especial a minha mãe Rosimar por todo esforço no processo da minha criação e incentivo a minha vida acadêmica e a minha irmã Romáina, por acreditar em mim.

Não esquecendo das pessoas fundamentais para o êxito da pesquisa e orientação, meu carinho, respeito e admiração aos meus orientadores, Josimar Batista Ferreira e Leila Priscila Peters, a professora Sandra Ribeiro por toda paciência e ensinamentos, sem vocês nada seria possível.

Aos amigos que me incentivaram, apoiaram, trabalharam junto e não mediram esforços para me ajudar, Carolinne Maia, Nataly Costa, Jaíne Rodrigues, Camila Ferreira e Samuel Cavalcante, através da vida de vocês pude compreender o verdadeiro significado do que Provérbios 17:17 fala: o amigo ama em todos os momentos, é um irmão na adversidade. Vocês foram essenciais na caminhada.

Sou grata a Universidade Federal do Acre (UFAC), ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia da Amazônia (CITA), e pelo apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Enfim, a todos que de forma direta ou indireta contribuíram em minha formação, este é um momento muito especial, realização de um sonho.

“ Pois será como a árvore plantada junto a ribeiros de águas, a qual dá o seu fruto no tempo certo; as suas folhas não cairão, e tudo quanto fizer prosperará”. (SALMOS 1:3)

RESUMO

Uma das mais importantes e antigas culturas agrícolas é o milho, em função do seu potencial produtivo, composição química e valor nutritivo. Durante o armazenamento em UAGs, este pode apresentar contaminação por fungos toxigênicos, como *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*. O experimento foi desenvolvido a partir de coletas de grãos de milho, armazenados em silos graneleiros. As unidades armazenadoras localizam-se nos municípios de Capixaba e Senador Guiomard no Estado do Acre. Assim, analisou-se a incidência de *Fusarium* em grãos armazenados. Realizou-se a análise de qualidade de grãos, isolamento, identificação fúngica e caracterização morfológica. Os resultados obtidos foram interpretados por meio das análises de variância, a partir do teste de Qui-Quadrado de Pearson, ao nível de significância de $\alpha = 0,05$. O gênero *Fusarium* foi detectado em todas as amostras analisadas, com variação de incidência entre 59,5% a 74%, referente ao silo de Capixaba e 62,5% a 67,5%, concernente ao silo de Senador Guiomard. A identificação morfológica revelou a prevalência do gênero *Fusarium* em relação aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, tanto nos grãos ardidos quanto nos assintomáticos. Os resultados evidenciaram que o gênero *Fusarium* foi o que mais acometeu os grãos de milho. A caracterização morfofisiológica identificou três espécies do gênero *Fusarium*, *F. solani*, *F. oxysporum* e *F. verticillioide*; Três espécies do gênero *Aspergillus*, *A. niger*, *A. clavatus* e *A. flavus*; e *Penicillium* sp.

Palavras-chave: *Fusarium*, fungos toxigênicos, silos, milho.

ABSTRACT

One of the most important and ancient agricultural crops is corn, due to its productive potential, chemical composition and nutritional value. During storage in UAGs, it may be contaminated by toxigenic fungi such as *Fusarium*, *Aspergillus* and *Penicillium*. The experiment was developed from the collection of corn grains, stored in bulk silos. The storage units are located in the municipalities of Capixaba and Senador Guimard in the State of Acre. Thus, the incidence of *Fusarium* in stored grains was analyzed. Grain quality, isolation, fungal identification and morphological characterization were analyzed. The results obtained were interpreted through analysis of variance, from the Pearson's Chi-Square test, at a significance level of $\alpha=0.05$. The *Fusarium* genus was detected in all analyzed samples, with an incidence ranging from 59.5% to 74%, referring to the Capixaba silo and 62.5% to 67.5%, concerning the Senador Guimard silo. Morphological identification revealed the prevalence of the genus *Fusarium* in relation to the genus *Aspergillus* and *Penicillium*, both in burnt and asymptomatic grains. The results showed that the *Fusarium* genus was the one that most affected corn grains. The morphophysiological characterization identified three species of the genus *Fusarium*, *F. solani*, *F. oxysporum* and *F. verticillioide*; Three species of the genus *Aspergillus*, *A. niger*, *A. clavatus* and *A. flavus*; and *Penicillium sp.*.

Keywords: *Fusarium*, toxigenic fungi, silos, corn.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Hifas: filamentos tubulares individuais dos fungos. (A) Hifas septadas (apocíticas); (B) Hifas não septadas (cenocíticas)	22
Figura 2. Micélio: parte vegetativa do fungo. (A) Grão de milho mofado. Formação de micélio; (B) Micélio de <i>Fusarium</i> cultivado em placa de petri em laboratório.....	22
Figura 3. Conídios de <i>Fusarium sp.</i> (A) Macroconídio; (B) Microconídio	23
Figura 4. Conídios do gênero <i>Fusarium</i>	23
Figura 5. Desenho esquemático estrutura do gênero <i>Aspergillus</i> . (A) Conídio; (B) Conidióforo	25
Figura 6. Conídio de <i>Aspergillus</i>	25
Figura 7. Estrutura do gênero <i>Penicillium</i>	26
Figura 8. Desenho esquemático de estrutura do gênero <i>Penicillium</i> Conidiofóro.....	26
Figura 9. Ramificações dos conidióforos do gênero <i>Penicillium</i> . (A) Monoverticilados; (B) Biverticilados; (C) Terverticilados; (D) Quaterverticilados.....	28
Figura 10. Mapa de localização dos silos graneleiros, referente ao município de Capixaba e Senador Guiomard no estado do Acre.....	29
Figura 11. Coleta das amostras de grãos.....	30
Figura 12. Análise de qualidade de grãos.....	31
Figura 13. Plaqueamento em meio BDA 200 grãos (20 grãos x 10 placas)	33
Figura 14. Microcultivo para a confirmação e identificação morfológica de <i>Fusarium</i>	34
Figura 15. Cultivo central em meio BDA para identificação morfológica de <i>Fusarium</i>	34
Figura 16. Relação média do teor de umidade dos grãos de milho armazenados em silos, no período de março a dezembro de 2020, nos municípios de Capixaba e Senador Guiomard no Estado do Acre.....	37
Figura 17. Relação de incidência fúngica dos gêneros <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Fusarium</i> , identificados nos silos dos municípios de Capixaba e Senador Guiomard no Estado do Acre.....	39

Figura 18.	Relação de incidência fúngica dos gêneros <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Fusarium</i> , durante os meses de coletas nos silos dos municípios de Capixaba no Estado do Acre.....	41
Figura 19.	Relação de incidência fúngica dos gêneros <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Fusarium</i> , durante os meses de coletas no silo do município de Senador Guimard no Estado do Acre.....	41
Figura 20.	Relação de incidência fúngica dos gêneros <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Fusarium</i> , em períodos úmidos e secos nos silos dos municípios de Capixaba e Senador Guimard no Estado do Acre...	42
Figura 21.	Relação de incidência fúngica dos gêneros <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Fusarium</i> , em períodos úmidos e secos nos silos dos municípios de Capixaba e Senador Guimard no Estado do Acre...	42
Figura 22.	Relação de incidência das espécies de <i>Fusarium solani</i> , <i>oxysporum</i> e <i>verticilioides</i> , referente aos silos dos municípios de Capixaba (A) e Senador Guimard (B) no Estado do Acre.....	44
Figura 23.	Relação de incidência espécies de <i>Aspergillus niger</i> , <i>clavatus</i> e <i>flavus</i> , referente aos silos dos municípios de Capixaba (A) e Senador Guimard (B) no Estado do Acre.....	45
Figura 24.	Relação de incidência espécies de <i>Penicillium sp.</i> , referente aos silos dos municípios de Capixaba (A) e Senador Guimard (B) no Estado do Acre.....	46

LISTA DE QUADROS E TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Limite máximo de tolerância expressos em percentual (%).....	21
Tabela 2. Qualidade de grãos em relação a danos e impurezas do milho (<i>Zea mays</i> L.) produzidos e armazenados no Estado do Acre.....	35
Tabela 3. Classificação dos Grãos de milho.....	36
Tabela 4. Teor de umidade dos grãos de milhos armazenados nos silos dos municípios de Capixaba e Senador Guiomard, Acre.....	37
Tabela 5. Percentual de incidência fúngica (Gêneros <i>versus</i> Silos).....	38
Tabela 6. Percentual de incidência de espécies de <i>Fusarium</i>	44

LISTA DE ABREVIATURAS

g – Gramas

kg - Quilogramas

L – Litro

LMTs – Limites Máximos Toleráveis

mL – Mililitros

OMS – Organização Mundial da Saúde

Ton – Toneladas

UAGs – Unidades Armazenadoras de Grãos

UR – Umidade relativa

µg – Microgramas

µL - Microlitros

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Importância da cultura do milho.....	16
2.2 Armazenagem de grãos.....	17
2.3 Qualidade e Classificação dos grãos de milho.....	18
2.4 Fungos.....	21
2.5 Gênero <i>Fusarium</i>	22
2.6 Gênero <i>Aspergillus</i>	24
2.7 Gênero <i>Penicillium</i>	25
3. OBJETIVOS.....	28
3.1 Objetivo Geral.....	28
3.2 Objetivo Específico.....	28
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 Local da coleta	29
4.2 Amostra da coleta	29
4.3 Período de coleta das amostras	30
4.4 Acondicionamento das amostras	30
4.5 Análise tecnológica (Qualidade de grãos)	30
4.6 Isolamento, identificação fúngica e caracterização morfológica	31
4.6.1 Isolamento - Batata-dextrose-ágar (BDA) (Riker & Riker, 1936)	31
4.6.2 Para crescimento e reprodução de fungos (Batata-sacarose-agar (BSA) (Booth, 1977)	32
4.6.3 Caracterização Morfológica	32
4.6.3.1 Plaqueamento em meio Agar sólido (BDA)	32
4.6.3.2 Método de microcultivo	33
4.7 Delineamento Experimental e Análise Estatística.....	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1 Qualidade de grãos e classificação	35
5.2 Qualidade sanitária e incidência de fungos patogênicos	37
6. CONCLUSÕES.....	48
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
ANEXO – TÍTULO DO ANEXO	64

1. INTRODUÇÃO

Uma das mais importantes e antigas culturas agrícolas produzida em larga escala em nível mundial, nacional e local é o milho, em função do seu potencial produtivo, composição química e valor nutritivo (NEUMANN, 2017). Tem origem nas Américas, mas é cultivado desde a Rússia até a Argentina, em diferentes latitudes. Tem como base a segurança alimentar da população, uma vez que é utilizado para a alimentação humana e nutrição animal. (SANTOS, 2017; MHATIAS, 2019).

Devido a sua vasta extensão territorial, climas diferenciados por região e amplas bacias hidrográficas, o Brasil tornou-se um país com grande potencial produtivo, por apresentar grande diversidade de cultivares que se adaptam a diferentes climas (JUNIOR, 2017). Entretanto, esta diversidade merece uma atenção maior, tendo em vista que elevadas temperaturas combinadas com alta umidade, como encontradas na região amazônica, podem favorecer o desenvolvimento de fungos. Estes podem se desenvolver tanto em campo, quanto durante o armazenamento de matéria-prima produzida para o processamento. (VALMORBIDA, 2018).

Desta forma, fungos de campo e armazenamento, como *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium* podem contaminar e se disseminar em produtos agrícolas durante o crescimento da planta, ou após a colheita em armazenagem. Estes compostos podem estar presentes, mesmo após a remoção do micélio, uma vez que a maior parte deles são resistentes a tratamentos físicos e químicos (PRESTES, 2019).

Assim, a etapa de armazenamento é de grande importância, devido à facilidade de associação com sistemas de secagem com ar forçado (AGBETIAMEH, 2019), pois possibilita a preservação das características, qualidade e viabilidade dos grãos, após a colheita e secagem.

Durante o período de armazenamento, podem-se iniciar processos de deterioração, devido à presença de contaminantes nas fases de pré e pós-colheita, tais como, contaminantes físicos, químicos e biológicos. Isso acontece em decorrência de falhas nos processos de armazenagem e de baixa capacidade de estocagem (TARUVINGA, 2014).

Segundo o Sistema Nacional de Aprendizagem Rural, as perdas mundiais no pós-colheita podem atingir 30% da produção agrícola. No Brasil, as perdas entre a colheita e o armazenamento chegam a 20% e os prejuízos de qualidade e quantidade

ocorrem, principalmente, pela presença de contaminantes de natureza biológica, física e química nas fases de pré e pós-colheita dos grãos, o que afeta cerca de 10% da produção nacional (SENAR, 2018).

O estado do Acre apresenta uma demanda crescente de milho, tal fato é observado através do aumento da importação de produto de outros estados nos últimos anos, assim como de área cultivada e da produção de grãos (EMBRAPA ACRE, 2015).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo analisar se o período de armazenamento de grãos de milho em silo influencia na incidência de fungos, do gênero *Fusarium*, no estado do Acre.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da cultura do milho

O milho (*Zea mays*) é uma planta anual, herbácea, pertence à classe das monocotiledôneas, da família Poaceae. Apresenta ampla adaptação a diferentes condições de ambientes e devido à composição de carboidrato, lipídeos e proteínas em seus grãos, dispõe de um alto teor energético (REGES et al., 2016).

Outro fator a se destacar é a temperatura ideal para o seu desenvolvimento, pois é necessário se ater ao período da emergência à floração, onde a temperatura ideal varia entre 24 a 30°C, no entanto, o milho obtém maior produção de matéria seca e maior rendimento de grãos à temperatura de 21°C. A queda do rendimento sob temperaturas elevadas se deve ao curto período de tempo de enchimento de grãos, em virtude da diminuição do ciclo da planta. (EMBRAPA, 2010).

Levando em consideração o potencial produtivo do milho, observa-se que é uma das culturas mais antigas, sua produção se dá em larga escala, abrangendo desde o leste europeu e norte da Ásia, indo a até a América do Sul (SMANIOTTO et al., 2014).

A agricultura foi e continua sendo um dos principais setores da economia brasileira. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento com base na safra de 2019/2020, o milho é o segundo grão de maior abrangência produtiva mundial, ficando atrás apenas da soja. É uma das commodities agrícolas mais importantes no mundo, sendo a principal fonte energética para ração animal, bem como base alimentar de alguns países e, não menos importante, na produção de combustível renovável, etanol (CONAB, 2020).

No que concerne à nutrição animal, na formulação de rações, o milho é considerado um alimento concentrado e importante componente energético, uma vez que é rico em energia e pobre em proteína (SANTOS, 2017). É abundante em provitamina A (betacaroteno) e é a principal fonte de pigmento amarelo em rações comerciais de aves. Apresenta baixos teores de triptofano, cálcio, riboflavina, niacina e vitamina D (LANA, 2000).

O grão do milho apresenta em sua composição média em base seca 61 a 78% de amido, 6 a 12% proteínas, 4 a 9% fibra e 4 a 6% de óleo.

As principais formas de amido disponíveis no milho são a amilose e a amilopectina, encontradas num arranjo facilmente digerível para os animais. Em relação

à proteína, a principal é a zeína. Esta proteína é pobre em aminoácidos essenciais, principalmente o triptofano e a lisina. Os óleos ou lipídeos encontrados no milho são classificados como ácidos graxos. A composição química do grão de milho pode variar de acordo com o solo em que foi cultivado, a variedade da semente e o clima de região (NEUMANN, 2017).

O milho é formado por quatro principais estruturas físicas: endosperma, gérmen, pericarpo (casca) e ponta, as quais diferem em composição química e também na organização dentro do grão (PAES, 2006).

O endosperma representa aproximadamente 83% do peso seco do grão, consistindo principalmente de amido, organizado na forma de grânulos. No endosperma estão também presentes as proteínas de reserva (LANA, 2007). O gérmen concentra quase a totalidade dos lipídeos (óleo e vitamina E) e dos minerais do grão, além de conter quantidades importantes de proteínas e açúcares. O pericarpo é responsável pela proteção das outras estruturas do grão, protegendo da elevada umidade do ambiente, insetos e microrganismos. As camadas de células que compõem essa fração são constituídas de polissacarídeos do tipo hemicelulose e celulose, embora também contenha lignina. A ponta é a menor estrutura do grão, e é responsável pela conexão do grão ao sabugo, sendo a única área do grão não coberta pelo pericarpo. Sua composição é essencialmente de material lignocelulósico (KEANE, 2006; PAES, 2006; COSTA, 2009; FAEHNRICH, 2016).

Desta forma, o milho é destinado tanto para o consumo humano quanto animal, podendo ser transformado em óleo, farinha, amido, margarina, xarope de glicose, cereais matinais, corantes, gelatinosos, adesivos, alimentos proteicos como para a alimentação de animais, sendo esse seu principal destino na fabricação de ração animal, silagem ou consumo direto, correspondendo a 75% da produção nacional. (BRASIL, 2012).

2.2 Armazenagem de grãos

O armazenamento é um processo de guarda de grãos, constituído por um conjunto de procedimentos destinados a manutenção de sua qualidade, preservando desta forma, suas qualidades físicas e químicas, desde a colheita até o abastecimento. Esse processo envolve uma sequência de operações como limpeza, secagem, tratamento fitossanitário, transporte, classificação, entre outros.

Assim, o setor de armazenamento torna-se de grande relevância para a cadeia produtiva de grãos, pois possibilita a obtenção de um produto fora de sua sazonalidade, tendo influência socioeconômica na disponibilidade e na qualidade de alimentos (PUZZI, 2000).

A finalidade principal do sistema de armazenagem é de garantir o fluxo de abastecimento constante, proporcionando maior estabilidade de preços e de mercado (CONAB, 2018).

O sistema de armazenagem dentro da cadeia produtiva do milho é uma das carências na produção agrícola local e nacional. A carência de armazéns nas microrregiões e a concentração da capacidade estática das empresas de recebimento da soja gera a falta de espaços localizados para o recebimento de outros produtos, tal como o milho (CONAB, 2013; 2018).

Como saída para esse problema, os produtores armazenam os grãos de forma imprópria em silos-bag ou fazem o armazenamento dos grãos fora dos armazéns, com exposição às intempéries do tempo (ABBAS, 2006).

O armazenamento inadequado de grãos de milho pode promover a associação com fungos, resultando em perdas quantitativas e qualitativas dos grãos. A contaminação por fungos que ocorre na pré-colheita provocando a podridão das espigas no pós-colheita, resulta em grãos ardidos e mofados, o que provoca a redução do peso e da qualidade dos grãos, mas também pode representar riscos à saúde humana e animal quando o milho é colonizado por fungos que produzem toxinas (PIMENTEL; FONSECA, 2011; PRESTES, 2019).

2.3 Qualidade e Classificação dos grãos de milho

Quando se fala em qualidade de grãos e cereais, geralmente, refere-se ao grau de utilidade esperado ou adquirido do produto. Desta forma, para fins de comercialização, espera-se que a matéria-prima adquirida apresente características nutricionais, físicas e sanitárias desejáveis ao mercado consumidor (AMARAL; BERNARDES, 2012).

Em grande parte dos países, os padrões de qualidade, estão baseados na pureza do grão, cor, quantidade de grãos quebrados, índice de rachados, material estranho, grãos danificados (incluindo por efeitos de calor de secagem, por influência do tempo,

enfermidades) teor de água, presença de fungos e presença de micotoxinas (ASCHERI; GERMANI, 2004; BENTO, 2011).

Embora tais parâmetros definam a qualidade dos grãos quando se trata de transações comerciais, há fatores que interferem na qualidade dos grãos e que podem estar relacionados desde o processo de semeadura em campo até os processos de comercialização. Assim, deve-se levar em consideração à ação de fatores físicos, químicos e biológicos, que interagem entre si favorecendo os processos de deterioração dos grãos, tanto em campo quanto no armazenamento (ALMEIDA et al., 2005).

Segundo Pimentel e Fonseca (2011) a qualidade dos grãos pode ser afetada pelas etapas de colheita, transporte e armazenamento, se estas forem realizadas de forma inadequada. Outro fator a ser considerado é a colheita de grãos com elevado teor de água, pois pode resultar na perda do produto, uma vez que altas temperaturas associada a alta umidade relativa do ar, bem como nutrientes disponíveis nos grãos, proporcionam um ambiente favorável para o ataque de insetos e fungos

A Embrapa Milho e sorgo estima que 30% da produção agrícola nacional é perdida em função de procedimentos na colheita, transporte e armazenamento inadequados. O excesso de umidade nos grãos representa um dos fatores que resultam na perda do produto devido a sua associação com outras variáveis, como temperatura, umidade relativa do ar e o próprio grão, proporcionando substrato ideal para o ataque de insetos e a proliferação microbiana, resultando na produção de substâncias tóxicas (EMBRAPA, 2007).

No Brasil, os defeitos do milho são verificados de acordo com a normatização do Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2011).

Para uma melhor compreensão do procedimento de análise e classificação de grãos, algumas definições se fazem necessárias. De acordo com a Instrução Normativa nº 60, de 22 de dezembro de 2011, os grãos que apresentam defeitos graves e leves, podem ser classificados como:

- **Grãos ardidos:** são grãos ou pedaços de grãos que apresentam escurecimento total, por ação do calor, umidade ou fermentação avançada atingindo a totalidade da massa do grão;
- **Grãos mofados** - grãos ou pedaços de grãos que apresentam contaminações fúngicas (mofo ou bolor);

- **Grãos fermentados:** são grãos ou pedaços de grãos que apresentam escurecimento parcial do germe ou do endosperma provocado por processo fermentativo ou calor, sendo também considerados como fermentados;
- **Grãos germinados:** são grãos ou pedaços de grãos que apresentam início visível de germinação;
- **Grãos chochos ou imaturos:** são grãos desprovidos de massa interna, enrijecidos e que se apresentam enrugados por desenvolvimento fisiológico incompleto;
- **Grãos gessados:** são grãos ou pedaços de grãos que tenham sofrido variação na sua cor natural, apresentando-se de esbranquiçado ao opaco, mostrando no seu interior todo o endosperma amiláceo com cor e aspecto de gesso (farináceo);
- **Grãos quebrados:** são os pedaços de grãos que vazarem pela peneira de crivos circulares de 5,00 mm (cinco milímetros) de diâmetro e ficarem retidos na peneira de crivos circulares de 3,00 mm (três milímetros) de diâmetro.

Os grãos de milho, também, podem ser definidos quanto aos grupos, de acordo com sua consistência e o formato:

- **Duro:** quando apresentar o mínimo de 85% em peso de grãos com o endosperma predominantemente córneo, exibindo aspecto vítreo; quanto ao formato, considera-se duro o grão que se apresentar predominantemente ovalado e com a coroa convexa e lisa.
- **Dentado:** quando apresentar o mínimo de 85% em peso de grãos com as características com consistência parcial ou totalmente farinácea; quanto ao formato, apresenta uma coroa uma reentrância acentuada.
- **Semiduro:** quando apresentar o mínimo de 85% em peso de grãos com consistência e formato intermediários entre duro e dentado.
- **Misturado:** quando não estiver compreendido nos grupos anteriores.

Na classificação oficial, os grãos de milho serão classificados em três tipos, de acordo com a qualidade e definidos pelos limites máximos de tolerâncias estabelecidos

na **Tabela 1.** da Instrução Normativa 60/2011 do Mapa, podendo ainda ser enquadrado como fora de tipo ou desclassificado.

Tabela 1. Limite máximo de tolerância expressos em percentual (%).

Enquadramento	Grãos avariados (ardidos)	Total de avariados	Grãos quebrados	Matérias estranhas e impurezas	Carunchados
Tipo 1	1,00	6,00	3,00	1,00	2,00
Tipo 2	2,00	10,00	4,00	1,50	3,00
Tipo 3	3,00	15,00	5,00	2,00	4,00
Fora de tipo	5,00	20,00	Maior que 5,00	Maior que 2,00	8,00

Fonte: SENAR, 2017.

2.4 Fungos

Segundo Madigan (2010) os fungos são distribuídos em cinco grupos distintos: Quitridiomycetos, Zigomicetos, Glomeromicetos, Ascomycetos e Basidiomicetos. Estima-se que existam mais de 1,5 milhões de espécies fúngicas no mundo, embora apenas 80.000 espécies tenham sido descritas (HAWKSWORTH, 2001; WEBSTER; WEBER, 2007).

Os fungos são conhecidos popularmente como morfo ou bolores. Estes são microrganismos eucarióticos, multicelulares e filamentosos. Através de sua atividade metabólica os alimentos podem sofrer alterações no sabor e na qualidade. Algumas destas alterações são desejáveis, como na fabricação de queijos. Porém, em muitos casos, os fungos podem causar transformações indesejáveis nos alimentos produzindo sabores e odores desagradáveis causados por diferentes graus de deterioração (MAZIERO, 2010).

Todos os fungos são eucariotos e podem ser unicelulares (leveduras), ou multicelulares (fungos filamentosos). As células fúngicas agrupam-se em filamentos, podendo ou não apresentar septos entre elas, porém, mesmo quando presentes, as funções metabólicas ocorrem sem impedimentos entre as células. Esses filamentos celulares são denominados hifas - Hypha, Gr = teia – (Figura 3) e o agrupamento intenso de hifas constituem o micélio (Figura 1 e 2), (BENEDIT, 2016).

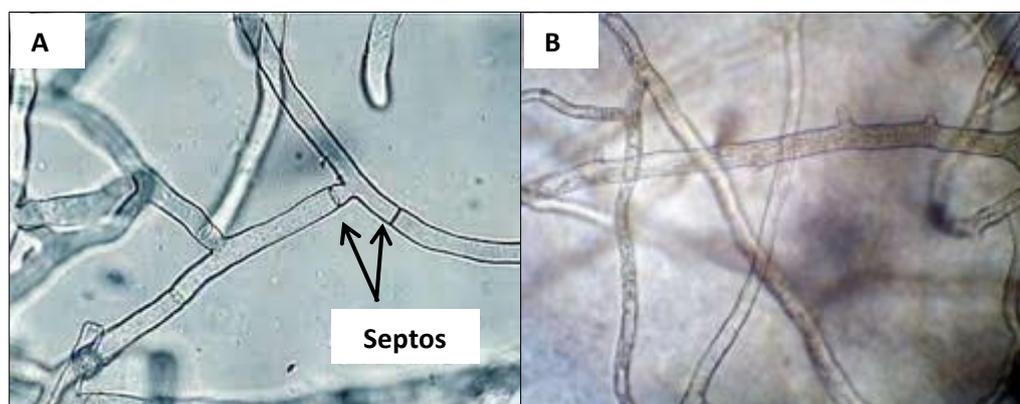


Figura 1. Hifas: filamentos tubulares individuais dos fungos. (A) Hifas septadas (apocíticas); (B) Hifas não septadas (cenocíticas). **Fonte:** Manual de fitopatologia, 2011.



Figura 2. Micélio: parte vegetativa do fungo. (A) Grão de milho mofado. Formação de micélio; (B) Micélio de *Fusarium* cultivado em placa de petri em laboratório. **Fonte:** Elaborada pela autora.

O crescimento das hifas é apical, porém, existem algumas regiões com extrema capacidade de crescimento, principalmente aquelas relacionadas às funções reprodutivas.

2.5 Gênero *Fusarium*

O gênero *Fusarium* foi descrito por Link no ano de 1809. Segundo a classificação taxonômica, pertence à ordem hypocreales do filo Ascomycota (SEIFERT, 1996). Apresenta uma ampla distribuição geográfica, tendo espécies cosmopolitas e outras com ocorrência restrita a determinados ambientes, ocorrendo, predominantemente, nas regiões tropicais e subtropicais ou em condições de clima frio das regiões temperadas (BURGESS et al., 1994).

De acordo com a International Mycological Association, até o ano de 2015, teve-se o registro de 850 nomes publicados associados ao gênero. É o terceiro gênero de

fungos com maior número de espécies que podem causar doenças em plantas e animais. E ainda, produzem uma ampla gama de toxinas e metabólitos secundários (GOLDSCHMIED ET AL., 1993; LESLIE & SUMMERELL, 2006). É um gênero anamórfico e sua principal característica genérica é a formação de conídios alongados, fusiformes e com vários septos (Figura 3 e 4), (LINK, 1809; GERLACH; NIRENBERG, 1982).

A taxonomia de *Fusarium* envolve três conceitos de espécie: o da espécie morfológica, baseada na similaridade dos caracteres morfológicos observáveis, denominados marcadores morfológicos; o da espécie biológica, baseado na compatibilidade sexual entre os membros da mesma espécie; e o da espécie filogenética, baseado na análise de sequências gênicas (O'DONNELL et al., 2000; SUMMERELL et al., 2003).

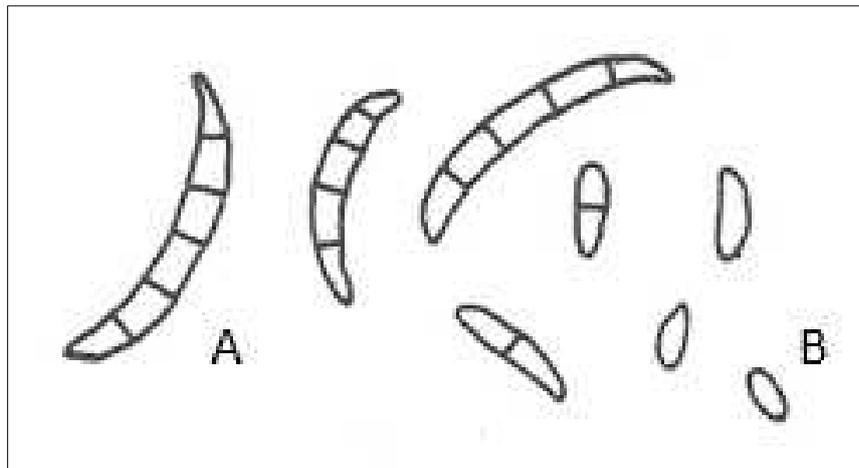


Figura 3. Conídios de *Fusarium* sp. (A) Macroconídio; (B) Microconídio.

Fonte: LIMA, 2015.

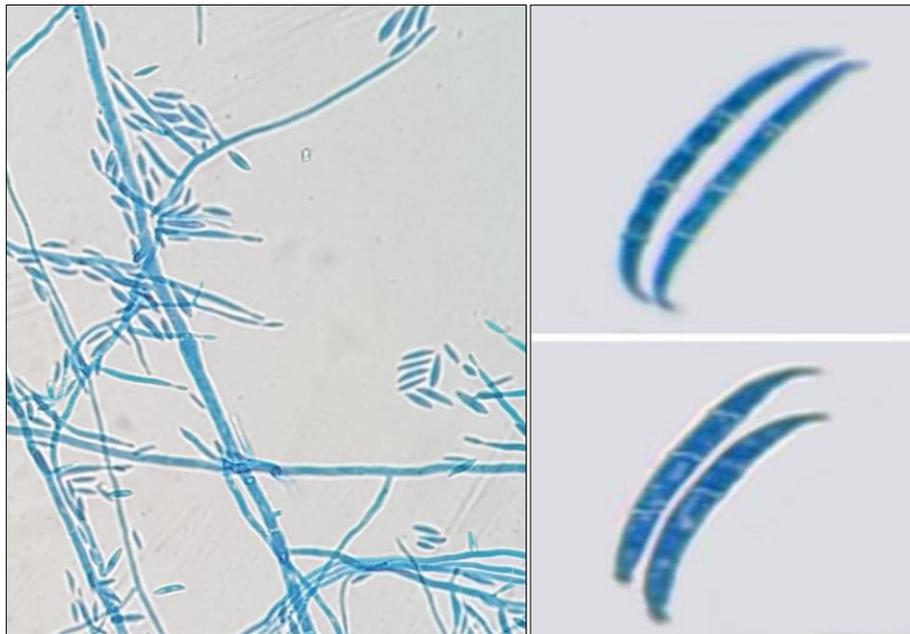


Figura 4. Conídios do gênero *Fusarium*.

Fonte: Elaborada pela autora.

O gênero *Fusarium* contém algumas das espécies de fungos mais importantes economicamente, devido à ampla gama de hospedeiros e aos danos diretos na agricultura, além de danos indiretos, pela capacidade de algumas espécies produzir micotoxinas (MICHIELSE; REP, 2009; WOLOSHUK; SHIM, 2013).

A identificação correta do agente causal de uma doença permite traçar medidas corretas para o manejo. Para a identificação de espécies do gênero *Fusarium*, deve-se observar os sintomas causados na planta, as condições climáticas em que a doença ocorreu, seguido do isolamento para a aplicação dos conceitos de espécie morfológica, biológica e filogenética (SUMMERELL et al., 2003).

2.6 Gênero *Aspergillus*

O gênero *Aspergillus* é considerado fungo imperfeito pela forma de reprodução exclusivamente assexuada (RAPER; FENNELL, 1977).

Taxonomicamente o reconhecimento desse gênero baseia-se na estrutura celular de reprodução assexuada (PRITCHARD; BRADT, 1984).

Em 1965, RAPPER E FENNEL (1965) realizaram uma descrição completa do gênero, reconhecendo cerca de 132 espécies e 18 variedades (GEISER et al., 2007; BENNETT, 2010).

Atualmente compreende mais de 260 espécies (SAMSOM; VARGA, 2009) e são registrados 695 nomes publicados associados ao gênero (International Mycological Association, 2015).

Apresentam impacto econômico positivo na sociedade, na produção de medicamentos, enzimas e ácidos (HARA et al., 1992). Porém, os impactos negativos chamam mais atenção, como a patogenicidade a humanos e animais, a degradação de produtos agrícolas e a produção de micotoxinas (KLICH, 2002; MALLMANN et al., 2014).

A coloração das colônias é uma importante característica macroscópica para a classificação das espécies, e apresentam ampla variação em tons de verde, amarelo, cinza, marrom, preto e branco (KLICH, 2002). É um gênero de fungos anamórficos que produzem conidióforo típico septado.

As espécies podem ser divididas em seções, dentre as quais as seções *Circumdati*, *Flavi* e *Nigri* são as mais importantes economicamente tendo em vista que algumas de suas espécies produzem micotoxinas (KLICH, 2002; MALLMANN et al., 2014). As espécies mais comumente associadas à contaminação de produtos agrícolas são *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. niger*, *A. ochraceus* e *A. alliaceus*, associadas à produção de ocratoxina e aflatoxinas (PERRONE et al., 2007).

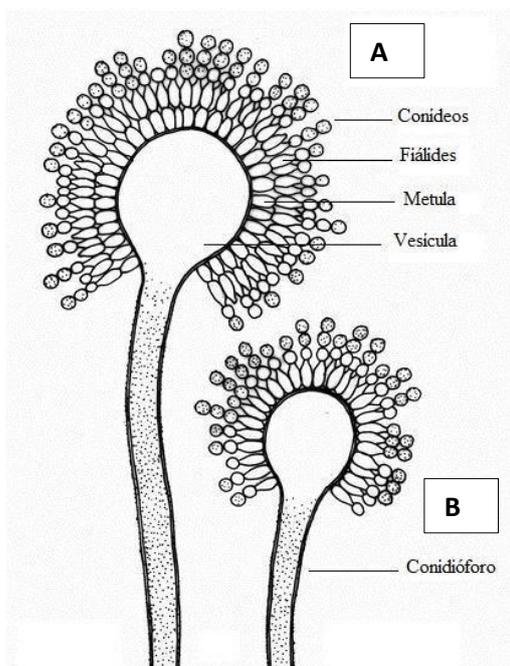


Figura 5. Desenho esquemático estrutura do gênero *Aspergillus*. (A) Conídio; (B) Conidióforo.
Fonte: RAPER; FENNELL, 1977.

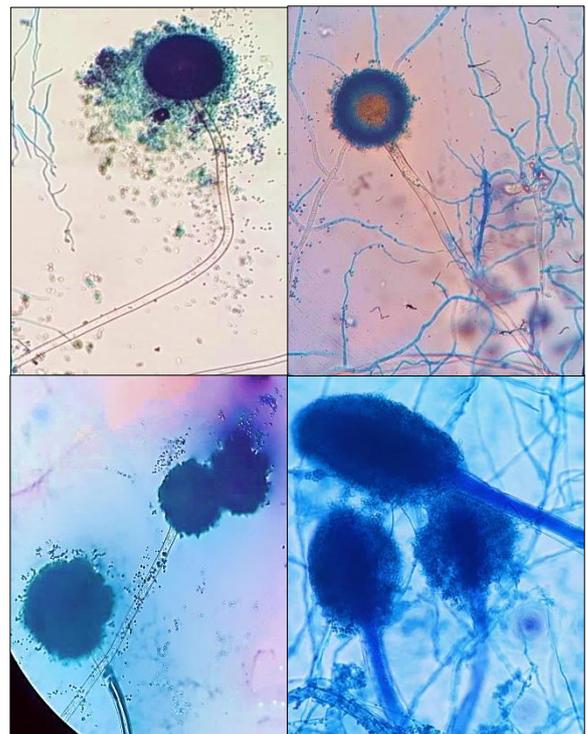


Figura 6. Estruturas do gênero *Aspergillus*.
Fonte: Elaborada pela autora.

2.7 Gênero *Penicillium*

O Gênero *Penicillium* foi descrito em 1809 por LINK (1809), e o primeiro trabalho sobre taxonomia foi escrito por RAPER e THOM em 1949.

As espécies deste gênero são adaptadas aos mais variados tipos de habitat e tem como característica ser saprófita e viver no solo, sendo responsável por causar mofo. É Pouco exigente nutricionalmente e tolera diversas condições físico-químicas (PITT; HOCKING, 2009).

Em condições ambientais favoráveis, o *Penicillium* pode estabelecer-se e se desenvolver em qualquer substrato, mas os principais em frutas, grãos, vegetais e raízes.

Quando a ocorrência é em sementes, este fungo provoca descolorações, há redução na germinação, perda da matéria seca e alteração do valor nutricional. Quando a incidência do fungo é alta, as sementes simplesmente apodrecem, sem brotar; outras brotam, mas as mudas se deterioram antes de emergirem (LIMA, 2015).

Um fator de grande relevância é sobre a germinação dos esporos, pois está, ocorre na faixa de temperatura entre 15 - 32 °C, sendo que o ótimo está entre 21 a 25 °C. Sob condições de armazenagem, o *Penicillium* pode proliferar caso ocorram condições de 80 a 90% de umidade relativa do ar e os grãos apresentem entre 15 a 18% de teor de umidade (VALMORBIDA, 2018).

O fungo pode ser utilizado na produção de medicamentos, como a Penicilina (FLEMING, 1929), na produção de enzimas (TERRASAN et al., 2012) e algumas espécies são exploradas na produção de alimentos fermentados como queijos e salsichas (GIRAUD et al., 2010; LUDEMANN et al., 2010).

Ao abordar as características morfológicas, observa-se que os esporos assexuais (ou conídios) são produzidos em cadeia a partir das fiálides, formando uma estrutura típica denominada penicillus (do latim: pequeno pincel), que caracteriza o grupo (PRADO, 2014). (Figura 7 e 8).

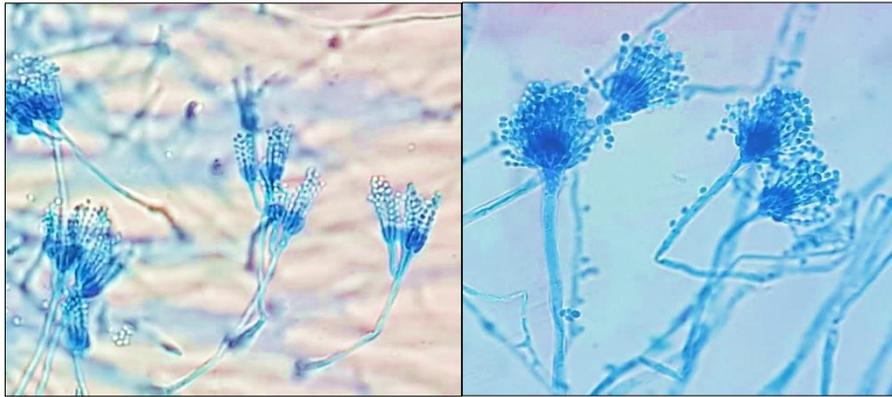


Figura 7. Estrutura do gênero *Penicillium*.

Fonte: Elaborada pela autora.

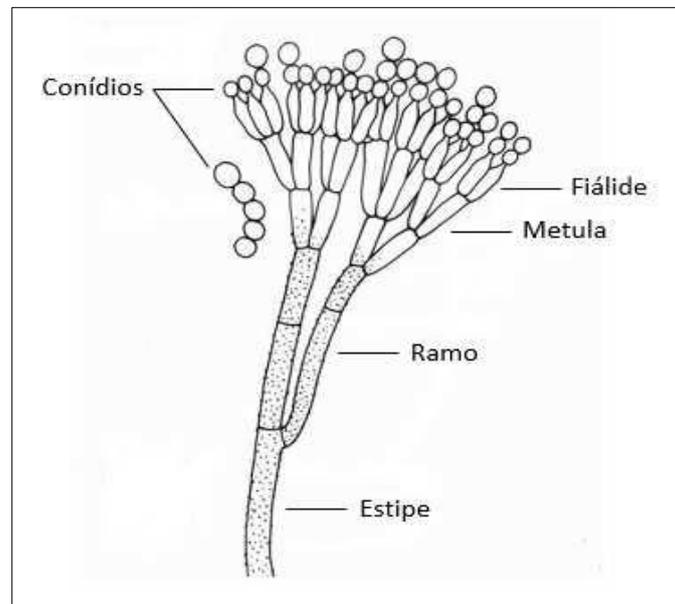


Figura 8. Desenho esquemático estrutura do gênero *Penicillium*. Conidióforo.

Fonte: RAPER & FENNELL, 1977.

No processo de identificação morfológica das espécies, as características das colônias e seu diâmetro em meios específicos são importantes. Deve-se observar os padrões de ramificações dos conidióforos, estes podem ser classificados como: ser monoverticilados, biverticilados, terverticilados ou quaterverticilados (KLICH, 2002; MALLMANN et al., 2014), (figura 9).

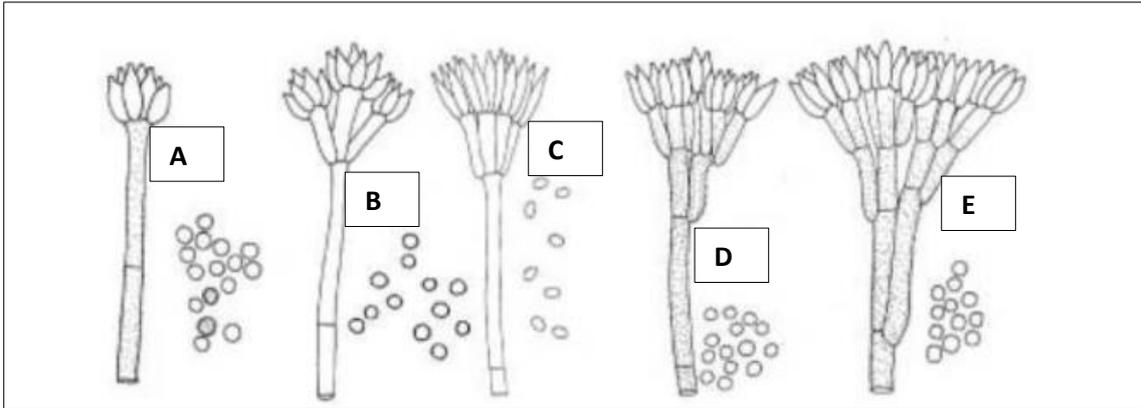


Figura 9. Ramificações dos conidióforos do gênero *Penicillium*. (A) Monoverticilados; (B) Biverticilados; (C) Terverticilados; (D) Quaterverticilados.

Fonte: RAPER & FENNELL, 1977.

O gênero *Penicillium* contém um grande número de espécies micotoxigênicas, e sua capacidade de produção é superior a qualquer outro gênero fúngico (KLICH, 2002; MALLMANN et al., 2014). As espécies frequentemente encontradas em milho e derivados são *P. funiculosum*, *P. citrinum* e *P. oxalicum*, associados à ocratoxinas e citrinina (PITT; HOCKING, 1999; PRADO, 2014).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Analisar se o período de armazenamento de grãos de milho em silo influencia na incidência de fungos, do gênero *Fusarium* no estado do Acre.

3.2 Específicos

- Avaliar se a qualidade dos grãos de milho é afetada durante o período de armazenamento;
- Identificar a presença do gênero *Fusarium* nos grãos de milho.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local da coleta

O estudo foi desenvolvido a partir de coletas de grãos de milho, armazenados em silos graneleiros. As unidades armazenadoras localizam-se nos municípios de Capixaba, BR 317, Km 80 e Senador Guiomard, BR 317, Km 57 (Estrada para boca do Acre – AM) no Estado do Acre, conforme a figura 10.

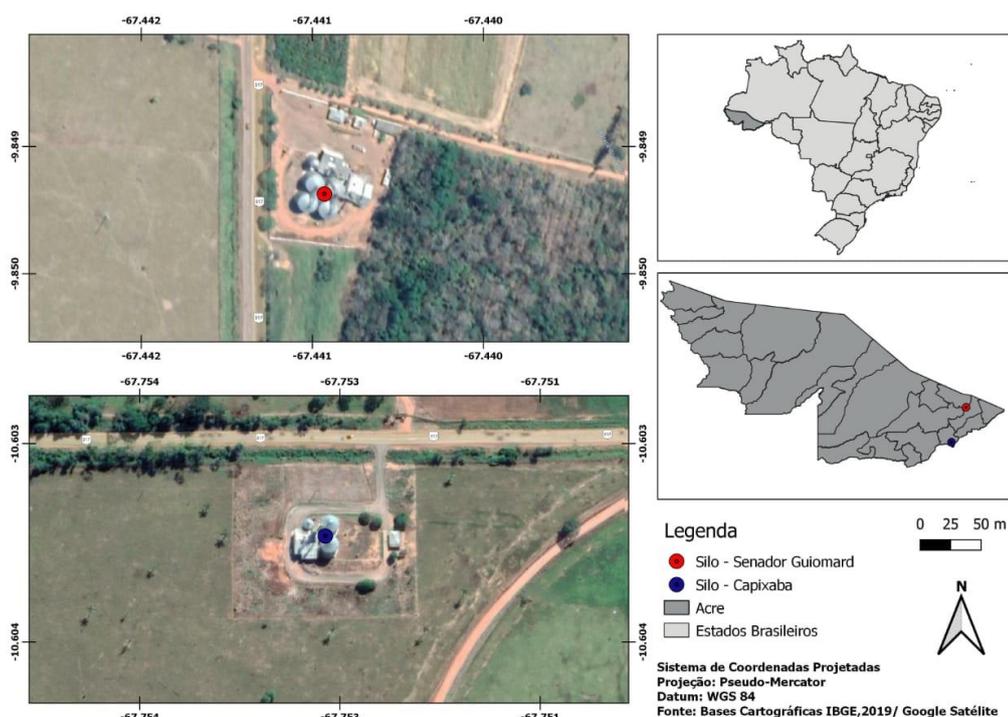


Figura 10. Mapa de localização dos silos graneleiros, referente ao município de Capixaba e Senador Guiomard no estado do Acre.

Fonte: Bases Cartográficas IBGE, 2019/Google Satélite.

4.2 Amostra da coleta

A amostragem representativa para análise foi de 3 kg. A coleta foi realizada em três pontos em cada silo. Onde foi feita a identificação das amostras a partir de uma ficha de dados coletados com base na orientação da CONAB, 2015.

Após a coleta e registro dos dados referentes às amostras, essas foram encaminhadas ao laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Acre, campus Rio Branco.



Figura 11. Coleta das amostras de grãos.

Fonte: Elaborada pela autora.

4.3 Período de coleta das amostras

O período de coletas foi realizado de março a dezembro de 2020, sendo feita uma coleta a cada três meses.

4.4 Acondicionamento das amostras

As amostras foram acondicionadas em uma caixa de isopor, adequadamente vedada e que proporcionava proteção contra impactos mecânicos, calor e luz, a fim de evitar vazamentos e contaminação durante o transporte (MAPA, 2013).

4.5 Análise tecnológica (Qualidade de grãos)

Os defeitos dos grãos (ardidos, chochos, germinados, fragmentados, quebrados, carunchados, morcados ou fermentados e materiais estranhos/impurezas) foram avaliados por triagem pela metodologia oficial do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução Normativa MAPA nº 60 de 22/12/2011. Cada porção de grãos preparadas (pelo método de quarteamento) foi visualmente separada por suas alterações físicas e biológicas causada por organismos vivos (grãos mofados, fermentados, ardidos, carunchados) e/ou físico/biológico (quebrado <5 e >3 mm, imaturo, gessado). Também foram avaliados as impurezas a partir de milho (restos de plantas, quebrado <3 mm) e/ou em outros (grãos diferentes, macro/detritos, solo, poeira, insetos mortos, outras plantas). As amostras de milho foram classificadas por tipo - I, II, III e fora de tipo (Figura 12).



Figura 12. Análise de qualidade de grãos.
Fonte: Elaborada pela autora.

4.6 Isolamento, identificação fúngica e caracterização morfológica

A amostra para identificação morfológica dos fungos toxigênicos foi realizada com base no MAPA – Manual Regras para Análise de Sementes, 10 x 20, sendo 10 o número de repetições em placas de petri contendo meio de cultura BDA, por 20 o número grãos distribuídos em cada placa, para isolamento e identificação fúngica. Totalizando 200 grãos por amostra de silo.

A metodologia para a identificação fúngica e caracterização morfológica foi desenvolvida a partir do Guia Prático para Fungos fitopatogênicos, Menezes Maria, 2004.

4.6.1 Isolamento - Batata-dextrose-ágar (BDA) (Riker & Riker, 1936)

Foi utilizado 200g de batata, 20 g de dextrose, 17 g de ágar e 1000 ml de água destilada. Preparo: Ferveu-se os discos de batata em 500ml de água por 30 minutos, e após filtrou-se o caldo através de gaze. Em seguida, fundiu-se o ágar em 500 ml de água, usando forno microondas. Adicionou-se a dextrose ao caldo e misturou-se tudo ao recipiente contendo o ágar fundido. Ajustou-se o volume para 1000 ml, com água destilada. Distribuiu-se o meio em tubos de ensaio ou em frascos de Erlenmeyer e esterilizava em autoclave.

4.6.2 Para crescimento e reprodução de fungos (Batata-sacarose-agar (BSA) (Booth, 1977)

Foi utilizado 250g de batata, 20 g de sacarose, 17 g de ágar e 1000 ml de água destilada. Preparo: Ferveu-se por 10 minutos 250 g de batatas descascadas, em 500ml de água. Coletou-se o extrato por filtração em tecido de algodão. Adicionou-se o extrato a outros ingredientes. Completou-se o volume para 1000 ml e depois colocou-se em autoclave durante 20 minutos. Guardou-se em refrigerador para uso posterior. Esse meio foi utilizado para o crescimento e esporulação de *Fusarium*.

4.6.3 Caracterização Morfológica

4.6.3.1 Plaqueamento em meio Agar sólido (BDA)

Procedimentos: Os grãos foram imersas, inicialmente, em solução de hipoclorito de sódio 1%, durante 3 minutos; e em seguida, após secagem rápida em papel de filtro esterilizado, distribuídos assepticamente sobre o meio ágar (BDA) a uma distância de 2-4 cm, 20 sementes por placa de petri (Figura 13).

As placas, com grãos, foram colocadas em temperatura ambiente, pelo período de 7-8 dias, sempre monitoras todos os dias, observando a germinação fúngica.

Avaliação/exame dos grãos: O exame inicial foi feito a olho nú, observando se havia formação e tipo de colônias desenvolvidas em volta dos grãos. Cor, textura, morfologia geral, levando em consideração a presença de corpos de frutificação, pois poderiam ser indicativos para o reconhecimento de espécies fúngicas.

Para a identificação das diferentes espécies fúngicas, foram analisadas as características macroscópicas, observando a morfologia da colônia, sendo a cor, textura, superfície e pigmento no meio de cultura. As características microscópicas foram analisadas por meio da morfologia da das estruturas reprodutivas fúngicas, pela técnica de microcultivo (BRASIL, 2004a).

Foi realizada inicialmente a técnica de semeadura em meio BDA e depois as amostras foram incubadas. Para inoculação, um fragmento de colônia crescida em BDA foi introduzido no centro da placa contendo meio de cultura. As placas foram incubadas a temperatura ambiente e monitoradas durante 7 dias. Logo após foi realizada a análise macroscópica.

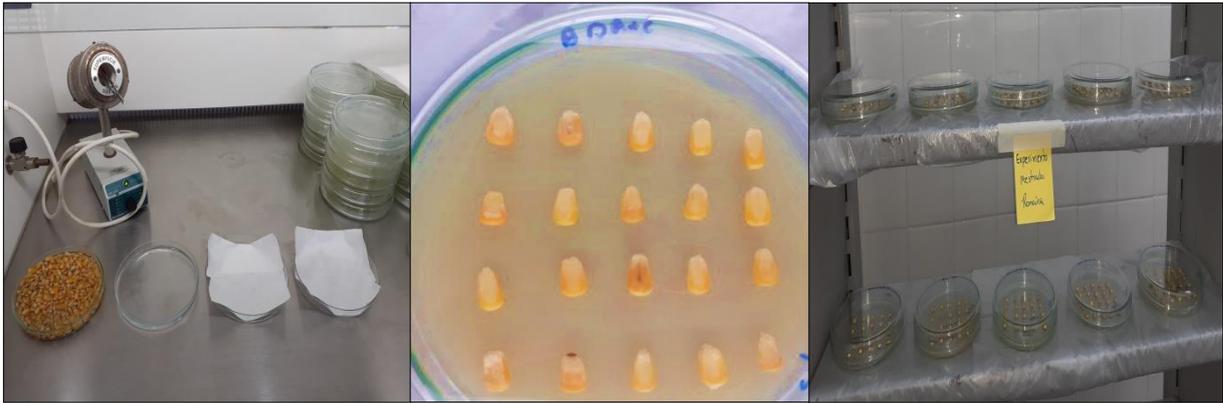


Figura 13. Plaqueamento em meio BDA 200 grãos (20 grãos x 10 placas).

Fonte: Elaborada pela autora.

4.6.3.2 Método de microcultivo

Para a identificação da espécie (*Fusarium*): utilizou-se fragmentos de colônias crescidas, foram então aplicadas sobre o meio BDA, com sobreposição de uma lamínula, com a técnica de microcultivo, incubadas durante 3 a 7 dias. A lamínula, com parte do crescimento da colônia repicada, foi transferida para uma lâmina contendo corante azul de algodão lactofenol. As estruturas fúngicas coradas foram visualizadas sob um microscópio óptico (Figura 18 e 19).

Para a identificação das espécies (*Aspergillus e Penicillium*): foram utilizados fragmentos de colônias crescidas, então aplicadas sobre o meio Czapek, com sobreposição de uma lamínula, com a técnica de microcultivo, incubadas durante 3 a 7 dias. A lamínula, com parte do crescimento da colônia repicada, foi transferida para uma lâmina contendo corante azul de algodão lactofenol. As estruturas fúngicas coradas foram visualizadas sob um microscópio óptico.

A identificação foi feita através das chaves de RAPER; FENNELL (1965), PITT (1979) e BARNETT; HUNTER (1986).

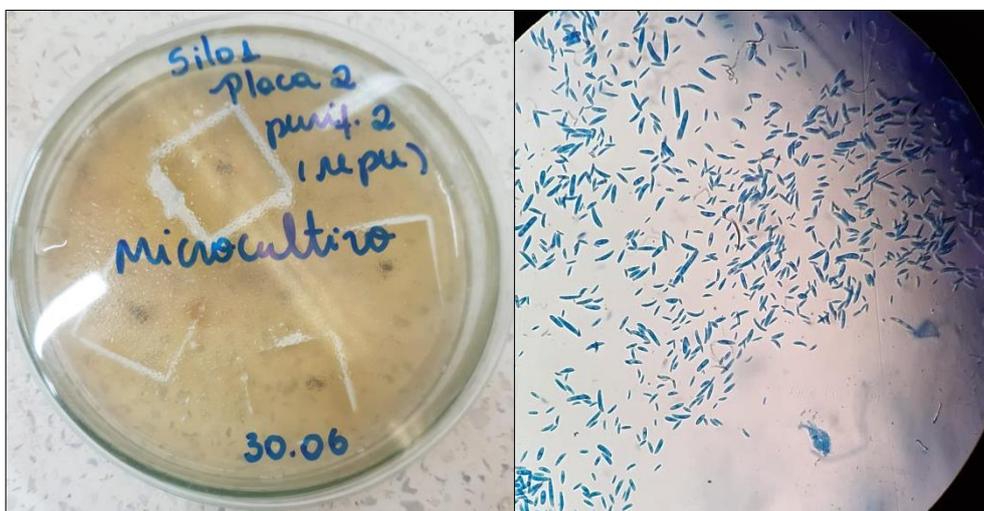


Figura 14. Microcultivo para a confirmação e identificação morfológica de *Fusarium*.

Fonte: Elaborada pela autora.

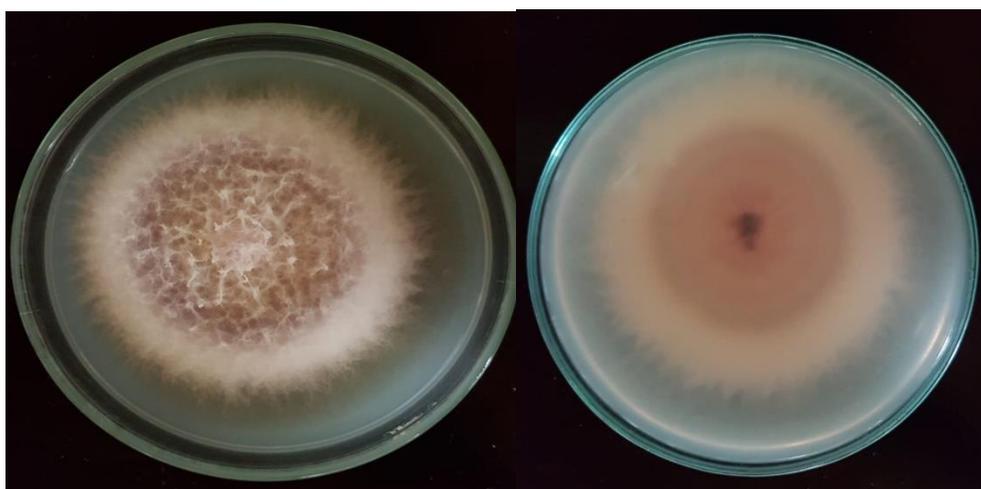


Figura 15. Cultivo central em meio BDA para identificação morfológica de *Fusarium*.

Fonte: Elaborada pela autora.

4.7 Delineamento Experimental e Análise Estatística

O experimento foi conduzido segundo o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com arranjo fatorial 2 x 4. Realizou-se o estudo em duas unidades de armazenamento, com quatro coletas, em um intervalo de três meses cada.

Os resultados obtidos foram interpretados por meio das análises de variância, a partir do teste de Qui-Quadrado de Pearson, ao nível de significância de $\alpha = 0,05$.

A rotina de cálculos para a determinação da referida estatísticas foi realizada pelo software R.

A análise de qualidade de grãos foi desenvolvida com base na Instrução Normativa MAPA nº 60 de 22/12/2011.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Qualidade de grãos e classificação

Observou-se que ambos os silos, apresentaram valores percentuais próximos em relação aos danos (ardidos, mofados, fermentados e carunchados), a unidade armazenadora de Grãos de Capixaba, apresentou média de 1,1%, o que foi superior ao de Senador Guiomard, com média de 0,3 %. Os defeitos de grãos ardidos e fermentados até ¼ são o reflexo das podridões das espigas originadas ainda no campo, provenientes da ação fúngica que sob condições favoráveis de temperatura, umidade relativa e teor de água, podem acelerar o processo de deterioração durante o armazenamento (Tabela 2).

A porcentagem de grãos quebrados foi de 2,6% no silo de Senador Guiomard, enquanto o silo de Capixaba obteve 1,4%. Esse defeito, na classificação oficial, é considerado fator de depreciação da qualidade de um lote, por levar a um enquadramento em tipo inferior quando presente em grandes porcentagens.

Para os danos referentes aos grãos gessados, os valores entre as unidades armazenadoras, respectivamente, foram 0,3 e 0,6%, apresentando-se dispostos com coloração e aspecto de gesso (farináceo). Entre as possíveis causas da formação dessas áreas opacas estariam as de origem genética (PATINDOL; WANG, 2003; GOMES, 2020), condições ambientais adversas, má formação dos grãos pela incidência de doenças, grande quantidade de grãos imaturos, alto grau de umidade e ataque de insetos sugadores (percevejos-do-grão) antes da colheita (PRESTES, 2019).

As Unidades Armazenadoras apresentaram impurezas em todas as amostras analisadas, porém a níveis aceitáveis, desta forma, não trariam danos severos aos lotes. Vale ressaltar que a presença de insetos vivos ou mortos durante o armazenamento pode ocasionar perdas na massa dos grãos, do valor nutritivo e redução do padrão comercial (Embrapa, 2007).

Tabela 2. Qualidade de grãos em relação a danos e impurezas do milho (*Zea mays* L.) produzidas e armazenadas no Estado do Acre.

Alterações em lotes de grãos	Qualidade de milho (%) e Tipo / UAGs			
	A		B	
	Média (%)	Tipo	Média (%)	Tipo
Danos				
Biológicos				
Ardido	0,7	I	1	I
Mofados	0,7	I	0,9	I
Fermentados	0,3	I	1,1	I
Carunchados	0,3	I	0,4	I
Físicos				
Quebrados (<5 > 3 mm) ^a	1,4	I	2,6	I
Gessado	0,3	I	0,6	I
Germinado	ND	I	ND	I
Imaturos	0,3	I	0,3	I
Impurezas				
Quebrados (< 3 mm) ^a	0,2	I	0,4	I
Outros grãos	ND	NA	0,2	I
Matérias estranhas	0,5	I	0,9	I
Insetos mortos	ND	NA	0,2	I
Outras plantas / sementes	0,1	I	0,3	I

^aTamanho de diâmetro da peneira; **UAGs:** Unidades Armazenadoras (**A:** Silo Capixaba; **B:** Silo Senador Guiomard); **NA:** Não aplicável; **ND:** Não detectado.

Quanto ao tipo de grão, os resultados de classificação (Tabela 3), indicam que mesmo durante um período de nove meses de armazenamento, os grãos mantiveram sua qualidade a níveis aceitáveis e foram classificados como Tipo 1.

Tabela 3. Classificação dos Grãos de milho

Silos	Matérias estranhas e Impurezas	Umidade	Avariados		Carunchados	Quebrados	Classificação		
			Ardidos	Total			Tipo	Grupo	Classe
A	0,54%	13,9%*	0,75	2,08	0,3	1,41	1	Duro	Amarela
B	0,84%	13,6%*	1	2,9	0,4	2,59	1	Duro	Amarela

A: Silo Capixaba; **B:** Silo Senador Guiomard; *A umidade dos grãos de milho deve ser no máximo, 14%.

No Brasil, pela classificação oficial, grãos ardidos juntamente com mofados e brotados são considerados defeitos graves que leva ao enquadramento oficial do milho em tipos 1, 2 e 3 com limites de tolerância máxima de 3%, 6% e 10% respectivamente.

5.2 Qualidade sanitária e incidência de fungos patogênicos

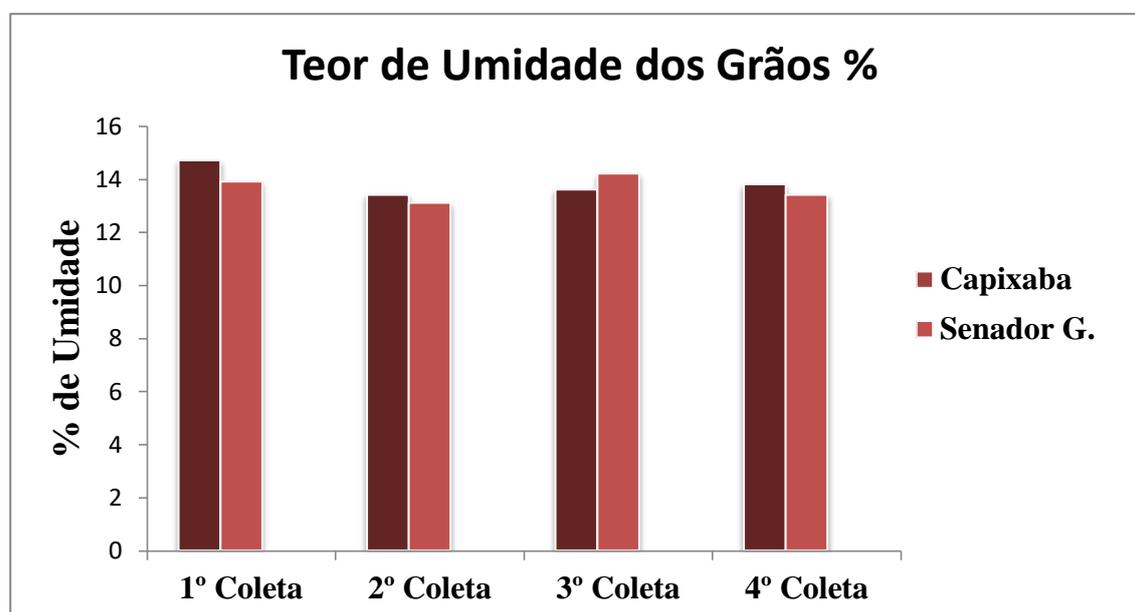
Durante o período de coletas observou-se que não houve diferença nos níveis médios de umidade dos grãos de milho.

Tabela 4. Teor de umidade dos grãos de milhos armazenado nos municípios de Capixaba e Senador Guimard, Acre.

Silos	Teor de umidade (%)			
	1° Coleta	2° Coleta	3° Coleta	4° Coleta
A	14,7	13,4	13,6	13,8
B	13,9	13,1	14,2	13,4
Meses	Março	Junho	Setembro	Dezembro

A: Silo Capixaba; B: Silo Senador Guimard.

A variação dos valores médios do teor de umidade dos grãos nas quatro coletas foram de 13,9% em Capixaba e 13,7%, em Senador Guimard. Os resultados indicam que as amostras de milho coletadas apresentaram umidade inferior a oficial admitida para a comercialização que é de até 14,0% (figura 16).



Figuras 16. Relação média do teor de umidade dos grãos de milho armazenados em silos, no período de março a dezembro de 2020, nos municípios de Capixaba e Senador Guimard no Estado do Acre.

Os valores do teor de umidade encontrados nas amostras são compatíveis com os recomendados para um armazenamento seguro de grãos. Grãos armazenados com teor de água na faixa entre 13 e 14%, não apresentam risco de deterioração por até um ano de armazenamento e teores abaixo de 12% indica que não apresentam risco de deterioração por um período superior a um ano (Brasil, 2011).

No estado da Bahia, um experimento sobre a qualidade de grãos de milho armazenado comprovou que teores de água inferiores a 14% são seguros para a armazenagem, pois desfavorecem o crescimento fúngico e produção de micotoxinas (ALMEIDA, 2009).

Foi observada a incidência dos fungos pertencentes aos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium* nas amostras de milho referentes às unidades armazenadoras dos municípios de Capixaba e Senador Guiomard.

O gênero *Fusarium* foi detectado em todas as amostras analisadas, com variação de incidência entre 59,5% a 74%, referente ao silo de Capixaba e 62,5% a 67,5%, concernente ao silo de Senador Guiomard. As médias de infestação do *Fusarium* para os silos de Capixaba e Senador Guiomard, respectivamente, foram de 66,6% e 65,4% para as quatro coletas realizadas (tabela 5).

Observou-se que durante o período de armazenamento, houve uma redução da incidência de *Fusarium*. No entanto, a maior média amostral em termos de incidência fúngica, quando comparada a outros fungos identificados, foi a do gênero *Fusarium*.

Tabela 5. Percentual de incidência fúngica (Gêneros *versus* Silos)

Silos	Gêneros (Média percentual de incidência)		
	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i>
Capixaba	64,02	14,2	21,77
Senador Guiomard	65,3	14,8	19,75
Resultados Qui-quadrado			
$\chi^2 = 1,18$	df:2	p-valor $\alpha = 0,55$	

*p-valor > 0,05

Os resultados obtidos na correlação do teste Qui-quadrado de Pearson, entre duas variáveis, (gênero *versus* silos), indicam que não houve interação significativa, uma vez que o p-valor foi igual a 0,55 (p-valor > 0,05), considerando normal a distribuição dos gêneros fúngicos identificados durante as coletas. O valor observado

($t=1,18$) foi menor que o valor esperado ($t=1,96$), não havendo diferença significativa entre os silos.

Observou-se, durante as coletas, que eram fornecidas aos grãos as mesmas condições de ambientes controlados em ambos os silos, desde a secagem dos grãos, aeração, controle de umidade e temperatura.

Desta forma, embora o silo de Senador Guiomard recebesse grãos de vários produtores do Estado do Acre, como também do Amazonas, o que poderia ter favorecido uma maior incidência de fungos toxigênicos, isso não atuou como uma variável determinante, nem gerou níveis de contaminação e disseminação fúngica maiores que o silo de Capixaba.

Quando se apresenta um manejo adequado durante o período de armazenagem de grãos, como a observação da umidade da massa de grãos, que deve ser realizada no momento da entrada dos grãos na unidade de armazenamento e, periodicamente, durante o armazenamento, como também a verificação dos grãos no processo de secagem, observando se apresentam umidade ideal para entrar no silo, se há monitoramento de temperatura e aeração, há um controle nos níveis de incidência fúngica, proporcionando um ambiente seguro e promovendo a qualidade dos grãos (DWEBA, 2017; CONAB, 2018; HAWKINS, 2018).

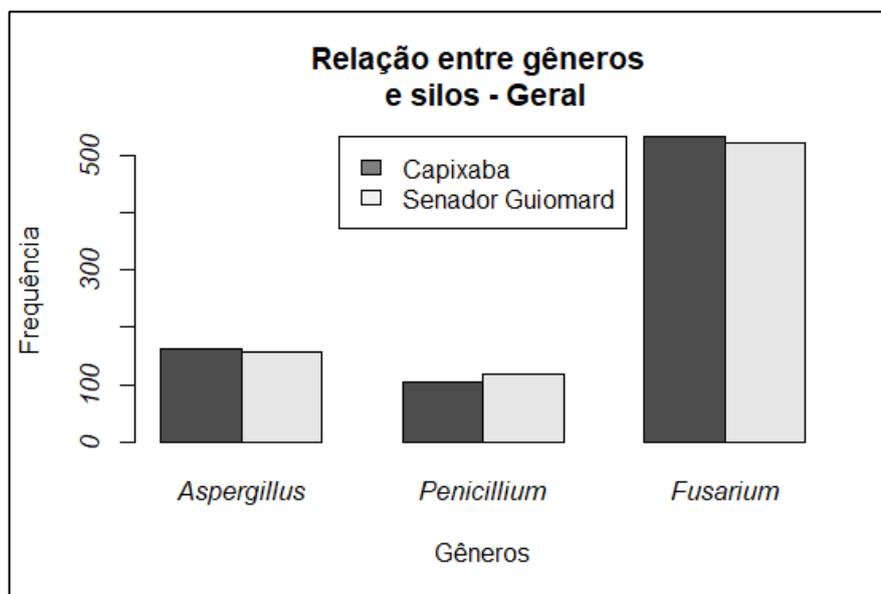


Figura 17. Relação de incidência fúngica dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, identificados nos silos dos municípios de Capixaba e Senador Guiomard no Estado do Acre.

Ao observar a Relação de incidência fúngica entre os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, identificados nos silos de Capixaba e Senador Guiomard, nota-se que a frequência do gênero *Fusarium* se destaca em ambos os silos em relação aos demais gêneros.

O gênero *Fusarium* foi detectado em grãos de milho por outros autores em regiões do Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil (MÁRCIA e LAZZARI, 1998; BENTO, 2011; FERREIRA et al, 2014). Os fungos sobrevivem associados às sementes de milho durante um período de 12 meses de armazenamento. Embora haja redução da incidência do gênero *Fusarium* durante o armazenamento, a presença desse fungo pode acelerar o processo de deterioração das sementes/grãos (TANAKA, 2001; MISTURA, 2020).

Um estudo realizado com grãos de armazenamento realizado na cidade de Cuibá-MT em 2015, relatou que houve incidência do fungo *Fusarium sp.* no decorrer do período de armazenagem (OLIVEIRA, 2017). As amostras apresentaram incidência média de 88,88% de *Fusarium*, sendo possível que a contaminação tenha ocorrido ainda em campo. O experimento também apresentou resultados favoráveis a respeito de maior incidência pelo gênero *Fusarium* quando comparados a outros fungos identificados, com infestação de 60% a 100% das amostras.

Ao observar a Relação de incidência fúngica entre os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, identificados nos silos de Capixaba e Senador Guiomard, nota-se que a frequência do gênero *Fusarium* se destaca em ambos os silos em relação aos demais gêneros.

O gênero *Fusarium* foi detectado em grãos de milho por outros autores em regiões do Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil (MÁRCIA e LAZZARI, 1998; BENTO, 2011; FERREIRA et al, 2014). Os fungos sobrevivem associados às sementes de milho durante um período de 12 meses de armazenamento. Embora haja redução da incidência do gênero *Fusarium* durante o armazenamento, a presença desse fungo pode acelerar o processo de deterioração das sementes/grãos (TANAKA, 2001; MISTURA, 2020).

Um estudo realizado com grãos de armazenamento realizado na cidade de Cuibá-MT em 2015, relatou que houve incidência do fungo *Fusarium sp.* no decorrer do período de armazenagem (OLIVEIRA, 2017). As amostras apresentaram incidência média de 88,88% de *Fusarium*, sendo possível que a contaminação tenha ocorrido ainda em campo. O experimento também apresentou resultados favoráveis a respeito de maior

incidência pelo gênero *Fusarium* quando comparados a outros fungos identificados, com infestação de 60% a 100% das amostras.

Com relação ao período de coleta, realizadas entre os meses de março a dezembro, os resultados obtidos indicam que não houve interação significativa, uma vez que o p-valor foi de 0,06 e 0,7 respectivamente para os silos de Capixaba e Senador Guiomard (p-valor > 0,05), considerando normal a distribuição dos gêneros fúngicos durante os meses de coleta para ambos os silos.

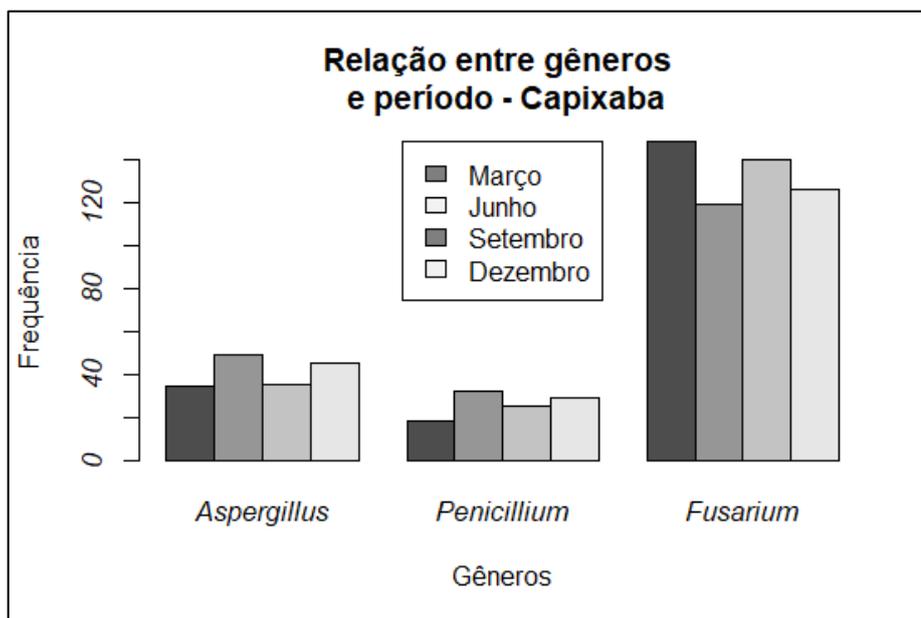


Figura 18. Relação de incidência fúngica dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, durante os meses de coletas nos silos dos municípios de Capixaba no Estado do Acre.

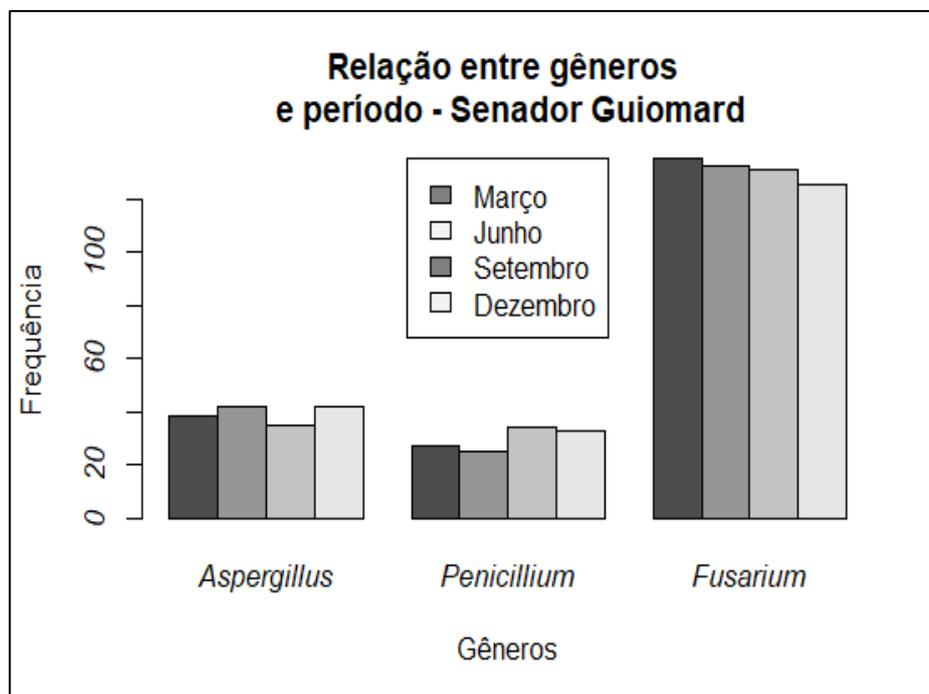


Figura 19. Relação de incidência fúngica dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, durante os meses de coletas no silo dos município de Senador Guiomard no Estado do Acre.

Ao observar as figura 18 e 19 nota-se que os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* tiveram uma leve oscilação em relação aos níveis de incidência durante as coletas. Acredita-se que essa variação tenha sido em decorrência do período chuvoso em alguns meses e de elevadas temperaturas em outros.

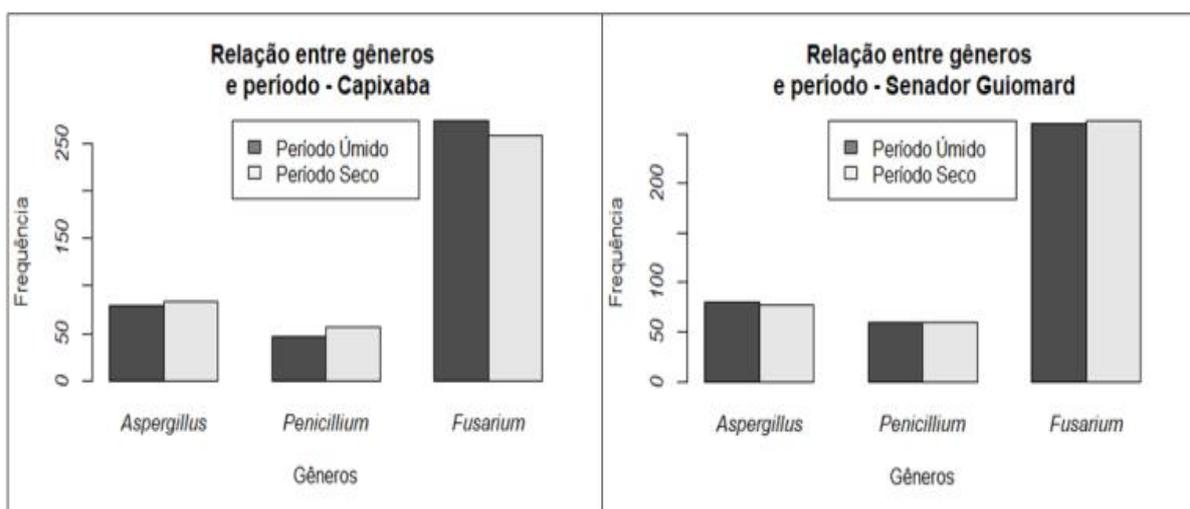
Com o início do período chuvoso e, conseqüentemente o aumento da umidade relativa do ar, a disponibilidade de água é maior, propiciando condições mais favoráveis para o desenvolvimento dos fungos e conseqüentemente comprometendo a qualidade dos grãos (SILVA, 2008).

O milho armazenado é submetido ao processo de aeração, este vai depende das condições ambientais devido à umidade relativa presente no ar (SCHMIELE, 2009; SANTOS, 2017).

Quando a umidade do ambiente é alterada, o grão tende a entrar em equilíbrio com as condições do ar ambiente. A umidade de equilíbrio dos grãos depende da temperatura, da umidade relativa do ar e das condições físicas do grão (LAZZARI, 1997; PALHARI, 2019).

Desta forma, observou-se ainda as condições ambientais (período seco e úmido) durante a coleta dos grãos são apresentadas nas figuras 20 e 21.

O período entre a primeira coleta que ocorreu no mês de março e a última, em dezembro, buscou-se observar se os períodos seco e úmido interferiam nos níveis de incidência fúngica, levando em consideração a umidade dos grãos durante as coletas das amostras, que sempre estavam entre 13 a 14 °C em ambos os silos.



Figuras 20 e 21. Relação de incidência fúngica dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, em períodos úmidos e secos nos silos dos municípios de Capixaba e Senador Guiomard no Estado do Acre.

Os resultados obtidos indicam que não houve interação significativa, (p -valor $> 0,05$), considerando normal a distribuição dos gêneros fúngicos durante ambos os períodos. O valor observado ($t=1,54$) foi menor que o valor esperado ($t=1,96$), não havendo diferença significativa entre os silos.

Valmorbida (2018), ao desenvolver um estudo referente à incidência fúngica em grãos de milho no período de armazenamento, avaliou quatro unidades armazenadoras de grãos, localizadas no sul do estado de RO (cidade Vilhena), norte do Brasil, observou que embora as regiões dominadas por clima tropical úmido possam favorecer o desenvolvimento de fungos em grãos, na colheita e durante o armazenamento, devido à vulnerabilidade de milho ao ataque de pragas e contaminação por fungos (MUNKVOLD, 2017; LUDEMANN, 2020), isso não se aplicou aos resultados da sua pesquisa, uma vez que a incidência de fungos dos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium* em períodos de armazenamento não apresentaram influência significativa a serem relacionadas à temperatura ou pluviosidade do Estado de Rondônia.

Os fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* contaminam os grãos depois da colheita e têm a capacidade de viver associados a grãos com baixo teor de água (BERTUZZI, 2019; TADEI, 2020). De acordo com Lanza (2017) a incidência de *Fusarium* e *Penicillium* como os fungos mais presentes nos grãos, seguidos de *Aspergillus* e *Stenocarpella* parece ser padrão para o milho brasileiro.

Outra afirmação que possivelmente pode explicar a alta frequência de *Fusarium* nos grãos de milho é que um microrganismo que se apresenta em maior número ou maior adaptação ao substrato tem vantagem sobre os demais, pois os fungos possuem um antagonismo passivo em que o crescimento é inibido pela competição do espaço e nutrientes fundamentais ao desenvolvimento. Nesse sentido, o *Fusarium* se apresentou como um forte competidor em relação aos outros gêneros (*Aspergillus* e *Penicillium*) (MOTTA et al., 2015; PALHARI, 2019).

Foram identificadas três espécies do gênero *Fusarium* (tabela 6): *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium verticillioides*. Ao observar a porcentagem média de incidência das espécies nos silos de Capixaba e Senador Guiomard respectivamente, notou-se que o *Fusarium solani* obteve maiores médias em ambos os silos (42,15 e 45,6%) e o *Fusarium verticillioides* obteve valores menores (17,7 e 27,75%).

Tabela 6. Percentual de incidência de espécies de *Fusarium*.

Silos	Espécies		
	<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium verticillioides</i>
Capixaba	42,15	40,15	17,7
Senador Guiomard	45,6	26,65	27,75
Resultados Qui-quadrado			
$\chi^2 = 27,85$	df:2	p-valor $\alpha = 8,963(10^{-7})$	

*p-valor < 0,05

Os resultados obtidos mostram que houve variação significativa em relação à incidência de espécies de *Fusarium* durante o período de armazenagem dos grãos, em ambos os silos. O (p-valor < 0,05).

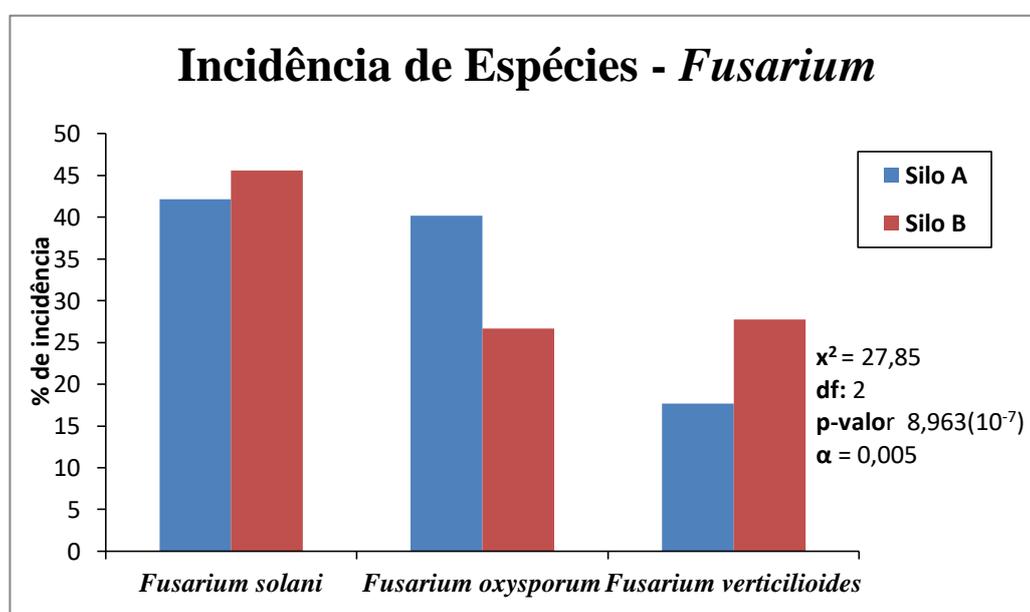


Figura 22. Relação de incidência das espécies de *Fusarium solani*, *oxysporum* e *verticillioides*, referente aos silos dos municípios de Capixaba (A) e Senador Guiomard (B) no Estado do Acre.

É possível observar que os níveis de incidência de *Fusarium* no silo de Senador Guiomard se sobressai aos de Capixaba, exceto a espécie de *Fusarium oxysporum* que no silo de Capixaba apresenta níveis mais elevados que os presentes no município de Senador Guiomard.

Acredita-se que o motivo de maior incidência fúngica no município de Senador Guiomard, se deve ao fato do silo receber grãos de vários produtores, como também de outro estado, possibilitando, assim, maiores níveis de contaminação.

A respeito das espécies de *Aspergillus niger*, *clavatus* e *flavus*, os resultados revelaram que não houve variação significativa em relação à incidência de espécies quando relacionadas aos silos de Capixaba e Senador Guiomard. Tendo em vista que os resultados de percentual de incidência fúngica foram próximos, o silo de Capixaba e Senador Guiomard apresentaram, respectivamente, para porcentagens de *Aspergillus niger* (55,4% e 53,7%), *Aspergillus clavatus* (26,14% e 30,5%) e *Aspergillus flavus* (18,4% e 15,8%). Observou-se ainda, quando correlacionadas às espécies com o período de armazenamento, que o *Aspergillus niger* obteve maiores índices de contaminação de grãos, seguido pelo *Aspergillus clavatus* e *Aspergillus flavus*.

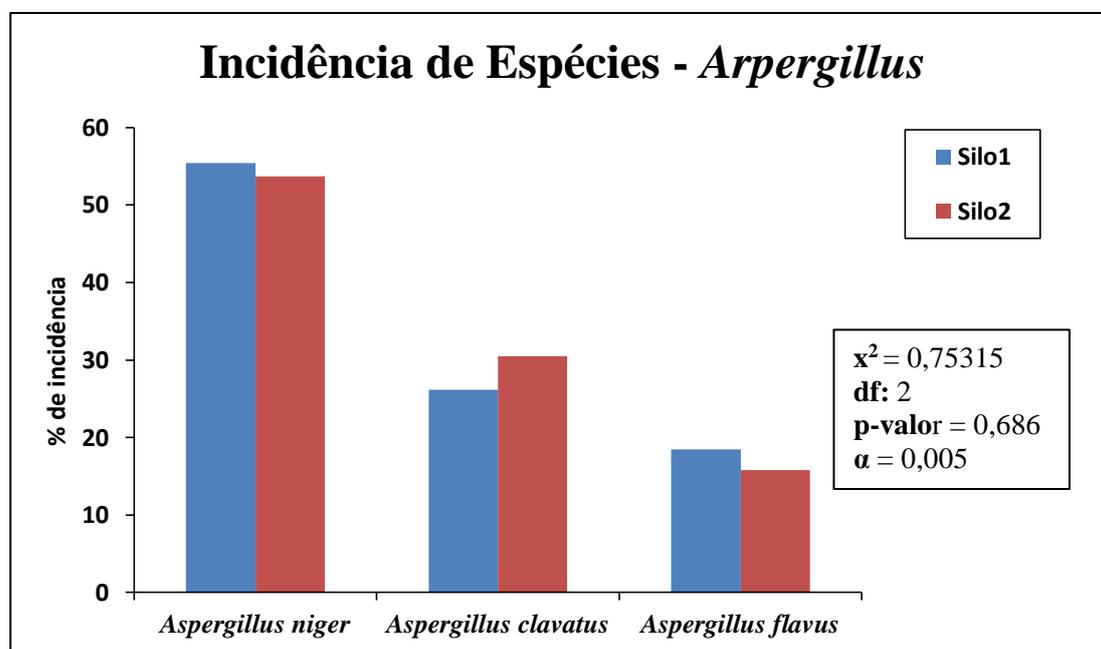


Figura 23. Relação de incidência espécies de *Aspergillus niger*, *clavatus* e *flavus*, referente aos silos dos municípios de Capixaba (A) e Senador Guiomard (B) no Estado do Acre.

Com relação às espécies de *Penicillium sp.*, o silo de Senador Guiomard apresentou maior incidência (58,5%), o silo de Capixaba obteve uma média percentual inferior (41,5%).

Ramos et al. (2010), relataram que ao fazer um levantamento de fungos presentes em grãos ardidos e sementes de milho, observaram alta incidência dos gêneros *Penicillium*. Das várias doenças de pós-colheita, o bolor verde, causado pelo

Penicillium é uma das mais importantes, pois seu agente causador encontra-se disseminado em todos os países produtores de grãos de milho, assim todas as espécies e cultivares estão suscetíveis à contaminação (GLÓRIA et., al, 2004).

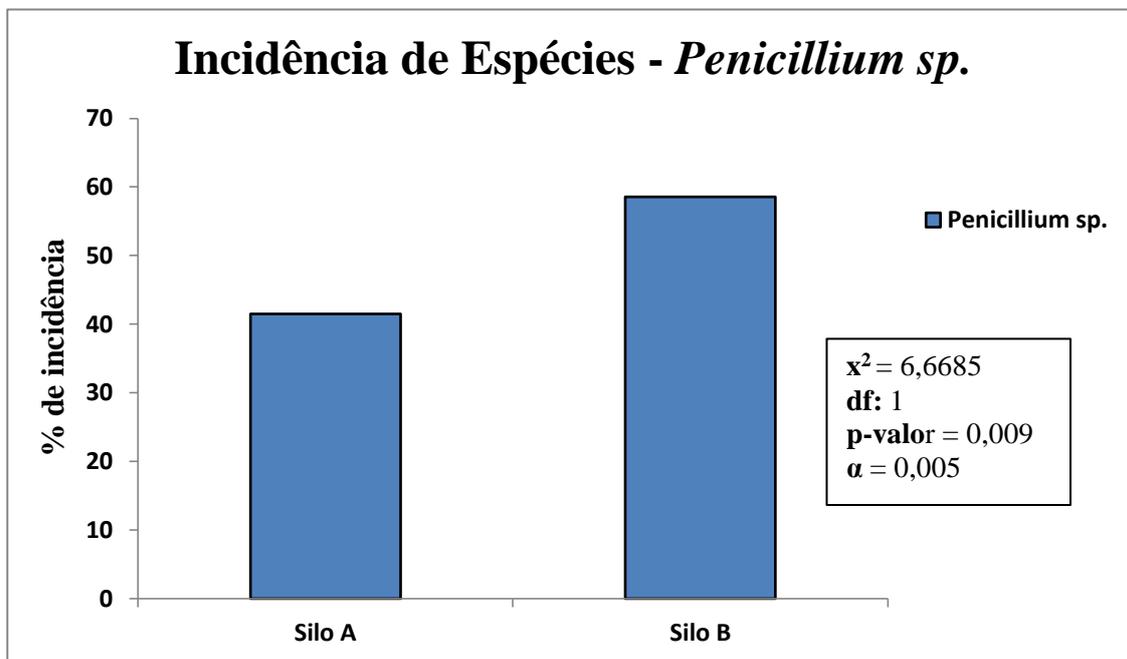


Figura 24. Relação de incidência espécies de *Penicillium sp.*, referente aos silos dos municípios de Capixaba (A) e Senador Guiomard (B) no Estado do Acre.

A incidência fúngica em grãos de milho armazenados em silos, observado no presente estudo, tem grande relevância no contexto microrregional, pois visa minimizar os impactos negativos e até perdas de produção, favorecendo a viabilidade econômica de pequenas propriedades, bem como, a comercialização em larga escala.

O estado do Acre vem nos últimos anos ampliando a área cultivada com o milho, o que tem proporcionado aumento da produção e do suprimento do grão para o mercado interno, embora com ganhos de produtividade ainda modestos. Desta forma, tem-se a preocupação em reestruturar as unidades armazenadoras mediante a instalação de silos graneleiros nos municípios com aptidão agrícola.

No decorrer da pesquisa observou-se uma maior incidência de fungos de campo (*Fusarium*), em relação a fungos de armazenamento (*Penicillium e Aspergillus*), que era o esperado. Assim, acredita-se que tal acontecimento esteja relacionado às práticas de manejo aplicadas em campo.

Desta forma, deve-se ficar atento aos fatores de manejo que podem afetar a qualidade dos produtos agrícolas em campo, como a escolha da espécie cultivada, a

variedade selecionada, as condições edafoclimáticas, as práticas de adubação e irrigação, o controle fitossanitário, a época do ano, a duração e procedimentos utilizados desde a colheita, transporte e armazenagem (BUSH et, al., 2004).

Tem-se ainda, como alternativa de controle de patógenos, as práticas culturais, como a rotação de culturas e a eliminação de restos culturais, eliminando hospedeiros alternativos e reduzindo o potencial de inóculo para a cultura subsequente.

Vale ressaltar que é imprescindível saber a procedência do lote de semente que será implementado no processo de semeadura, sendo importante saber se as sementes são idôneas, livres de patógenos.

6. CONCLUSÕES

Os resultados da classificação de grãos indicaram que mesmo durante um período de armazenamento, os grãos mantiveram sua qualidade a níveis aceitáveis e foram classificados como Tipo 1. As UAGs apresentaram impurezas em todas as amostras analisadas, porém a níveis toleráveis, desta forma, não trariam danos severos aos lotes.

Os grãos de milho armazenados nos municípios de Capixaba e Senador Guiomard no Estado do Acre apresentaram contaminação por fungos patogênicos, *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*.

A identificação morfológica revelou a prevalência do gênero *Fusarium* em relação aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, tanto nos grãos ardidos quanto nos assintomáticos. Os resultados evidenciaram que o gênero *Fusarium* foi o que mais acometeu os grãos de milho.

Foram identificadas espécies de *F. solani*, *F. oxysporum* e *F. verticillioide*; *A. niger*, *A. clavatus* e *A. flavus*; e *Penicillium sp.*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, H. K.; et al. **Aflatoxin and fumonisin contamination of corn (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas. USA. Crop Protection** 25, 2006, pg 1-9.

ALMEIDA, A. P. et al. Milho recém-colhido no Brasil: Interação da microbiota fúngica, fatores abióticos e ocorrência de fumonisinas. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, n. 1, p.1-9, 2005.

ALMEIDA A V, BOTURA M, ABREU R, BITTENCOURT T, BATATINHA M, (2009). Ocorrência de aflatoxinas em milho destinado à alimentação de aves no estado da Bahia. **Arquivos do Instituto Biológico**, 76(3), 353-358.

AMARAL, R. C.; BERNARDES, T. F. Conhecendo e escolhendo híbridos de milho para silagem. Radar Técnico: Ovinos e Caprinos, AgriPoint. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/ovinos-e-caprinos/conhecendo-e-escolhendo-hibridos-de-milho-para-silagem-80791n.aspx>> Acesso em: 11 de outubro 2020.

ANDRADE, E. T. et al. Qualidade de sementes de milho armazenadas em silo metálico cilíndrico. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v.28, n.2, p.23-30, 2003.

ARINO, A. HERRERA, M. et al. Influence of agricultural practices on the contamination of maize by fumonisin mycotoxins. **Journal of Food Protection**, v. 72, p. 898 - 902, 2009.

ASCHERI, J.L.R.; GERMANI, R. Protocolo de qualidade do milho. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2004. 23p. (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Documentos, INSS 0103-6068; 59).

BACALTCHUK, B.; LORINI, I. **A Qualidade Desejada Na Armazenagem De Grãos No País**. Embrapa Trigo, 2008.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. REGRAS PARA ANÁLISE DE SEMENTES. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BENEDIT, P. 2016. Impacto Económico de la Infección con *Fusarium verticillioides* y Acumulación de Fumonisin en Maíz. Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales. Universidad Nacional del Nor-oeste de la Provincia de Buenos Aires. Pergamino.

BENNETT JW. An Overview of the Genus *Aspergillus*. [Online].; 2010 [acesso] 2020 maio 26. Disponível em:

<<http://www.openaccessbiology.com/Aspergillus/Aspergillus1.pdf>>.

BENNETT J.W.; KLICH M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 16, n. 3, p. 497-516, 2003.

BENTO, L. F. et al. Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, n. 71, v. 1, p.44-49, 2012.

BENTO, Larissa Fatarelli. **Qualidade física e sanitária de grãos de milho armazenados em Mato Grosso**. 2011. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2011.

Blandino M, Scarpino V, Vanara F, Sulyok M, Krska R, Reyneri A. **Role of the European corn borer (*Ostrinia nubialis*) on contamination of maize with *Fusarium* mycotoxins**. Food Additives & Contaminants: Part A. 2014.

Boddy L, Coleman M. From Another Kingdom: The Amazing World of Fungi Edinburgh: RBG Edinburgh; 2010.

Booth C. The Genus *Fusarium* United Kingdom: Commonwealth Mycological Institute; 1971.

BURGESS, L. W.; SUMMERELI, B. A.; BULLOCK, S, GOTT, K. P. & BACKHOUSE, D. Laboratory manual for *Fusarium* research, Sydney, University of Sydney, 1994.

BUSH, B.J. et al. Infection and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* in developing maize kernels. **Phytopathology**, v. 94, n. 1, p. 88-93, 2004.

BEWLEY, J. D.; Black, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

CALDAS, E. D. et al. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. **Revista Saúde Pública**, v. 36, n.3, p.319-23, 2002.

CALVET, R.M. **Isolamento e identificação de fungos toxígenos em carcinicultura marinha**. 81 f., 2008. Dissertação de mestrado em Ciência Animal, Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina.

CARDOSO, W. S.; PINEHIRO, F. A.; MACHADO, F. P.; BORGES, J. T. F.; RIOS, S. A. **Indústria do milho**. In: BORÉM, A.; RIOS, S. de A. (Ed.). *Milho biofortificado*. Visconde do Rio Branco: Suprema, p. 173-195, 2011.

Carvalho L do S da C, Ribeiro M do SS, Sousa CL, Nascimento VHA do. Boas práticas e qualidade sanitária dos alimentos servidos em restaurantes do tipo self-service no Campus da Universidade Federal do Pará. *Segur. Aliment. Nutr.* [Internet]. 20º de dezembro de 2016 [citado 29º de janeiro de 2021];23(2):924-32. Disponível em: <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8645998>.

CIEGLER, A.; DETROY, R. W.; LILLEJOJ, E. B. *Patulin, penicillic acid and other carcinogenic lactones*. In: CIEGLER, A.; KADIS, S.; AJL, S. J. (Ed.). **Microbial toxins**, New York: Academic Press, v. 6, p. 409-434, 1971.

CIEGLER, A. *Patulin*. In: RODRICKS, J. V.; HESSELTINE, C. W.; MEHLMAN, M. A. (Ed.). *Mycotoxins in human and animal health*. Park Forest South: Pathotox, p. 609-624, 1977.

COLE, R. J.; COX, R.M. In: **Handbook of Toxic Fungal Metabolites**. New York: Academic Press, 937p, 1981.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento - **Armazenagem agrícola no Brasil**. Brasília, 2013.

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. 2018. **Grãos: Série Histórica 2016/2017**.

CONAB 2018 - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: safra 2017/2018**. v.5, n.9, (Nono levantamento), Brasília, 178 p, Junho 2018.

CONAB 2019. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: Safra 2018/19 de grãos**. v. 6, n. 12 (Décimo segundo levantamento), Brasília, 47 p. Setembro de 2018.

CONAB, 2020. Companhia Nacional de Abastecimento. **Perspectivas para a agropecuária**. vol. 7- safra 2019/ 2020.

CORADI, P. C. et al. Alternatives of storage of corn grains for the conditions of the brazilian cerrado. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 1, p. 29-40, 2016.

COSTA, Flávio Murilo Pereira. **Severidade de *Phaeosphaeria maydis* e rendimento de grãos de milho (*Zea mays* L.) em diferentes ambientes e doses de nitrogênio**. 2001. 99f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

DOOHAN, F. M. et al. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109: p. 755–768, 2003.

DÉBORA, C. et al. Composição Química e Energética de Amostras de Milho Submetidas a Diferentes Temperaturas de Secagem e Períodos de Armazenamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.2, p.358-364, 2004.

DUARTE, A.P. A aparência engana. *Revista Cultivar*, Ano IX, n. 94, p. 10-12, 2007.

USDA – United States Department of Agriculture, Subpart D -- United States Standards for Corn. Disponível em:

<<http://archive.gipsa.usda.gov/referencelibrary/standards/810corn.pdf>>. Acesso em 12 de dezembro de 2020.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010.

EMBRAPA. **Micotoxinas: importância na alimentação e na saúde humana e animal**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 48p.

EMBRAPA MILHO E SORGO, 2006, Circular técnica 75. Sete Lagoas, MG. Dezembro, 2006. Autores: Maria Cristina Dias Paes. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**.

ERNANDES R. A. et al. Qualidade dos grãos de soja armazenados em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.13, n.5, p.606-613, 2009.

FERNANDES, R. R. G., **Micotoxinas: a situação atual da legislação e metodologias analíticas**, 2007. Dissertação de Mestrado, Universidade de Aveiro: Portugal.

FERRARI FILHO, Eldar. **Métodos e temperaturas de secagem sobre a qualidade microbiológica do grão de milho no armazenamento físicoquímica e**. 2011. 95 p.

Dissertação (Mestrado em ciência da planta) - Faculdade de Agronomia da UFRGS, Porto Alegre, 2011.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, P.; QUEIROZ, V. A. V.; CONCEIÇÃO, R. R. P. da; MIGUEL, R. de A. **Micotoxinas em Produtos Derivados de Milho Comercializados em Minas Gerais**. Circular técnica 204, Sete Lagoas, MG, dezembro, 2014. Disponível em: Acesso em: 28/11/ 2020.

FLOR, E. P. O. et. al. Avaliação de danos mecânicos em sementes de soja por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 1, p.68-76, 2004.

FOOD INGREDIENTS BRASIL, As Micotoxinas. **Food Ingredients Brasil**, nº 7, 2009.

FORTI, V. A. et. al, Avaliação da evolução de danos por “umidade” e redução do vigor em sementes de soja, cultivar tmg113-rr, durante o armazenamento, utilizando imagens de raio x e testes de potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3 p. 123-133, 2010.

FREIRE, F. C. O. et al. Mycoflora and mycotoxins of Brazilian cashew kernels. **Mycopathologia**, v. 145, p. 95-103, 1999.

FREIRE, F. C. O. et al. Mycoflora and mycotoxins in Brazilian black pepper, white pepper and Brazil nuts. **Mycopathologia**, v. 149, p. 13-19, 2000.

FREIRE, F. C. O.; VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, M. I. F.; MENDES, F. N. P. **Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal**. Fortaleza - CE: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.

GEISER D. M. et al. The current status of species recognition and identification in *Aspergillus*. **Studies in Mycology**. p. 1-10, 2007.

GERLACH W.; NIRENBERG H. **The genus Fusarium - A pictorial atlas. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt**. 1982: p. 1-405.

GIMENO, A. **Revision genérica del problema de los hongos y de las micotoxinas en la alimentación animal**. Boletim1. Special Nutrients. 2000.

GIRAUD, F. et al. Microsatellite loci to recognize species for the cheese starter and contaminating strains associated with cheese manufacturing. *International Journal of Food Microbiology*. p. 204- 213, 2010.

GOLDSCHMIED R. A. et al. *Fusarium* spp. isolated from non-ocular sites: a 10 year experience at an Israeli general hospital. *Journal of Mycologie Medicale*. p. 99-102, 1993.

GONZALES-PEÑA, E. et al. Comparison between capillary electrophoresis and HPLC-FL for ochratoxin A quantification in wine. *Food Chemistry*. 97, p. 349-354, 2006.

HAGLER, W. M.; TOWERS JUNIOR, N. R.; MIROCHA, C. J.; EPPLEY, R. M.; BRYDEN, W. L. *Zearalenone: mycotoxin or mycoestrogen?* In: SUMMERELL, B. A.; LESLIE, J. F.; BACKHOUSE, D.; BRYDEN, W. L.; BURGESS, L. W. (Ed.). *Fusarium*. St. Paul: APS Press, p. 321-331, 2001.

Hara S, Kitamoto K, Gomi K. **New developments in fermented beverages and foods with *Aspergillus***. In Bennett JW, Klich MA, editors. *Aspergillus: Biology and Industrial Applications*. Boston; 1992. p. 133-153.

HARRIS, S.D.; KRAUS, P. **Regulation of septum formation in *Aspergillus nidulans* by a DNA damages checkpoint pathway**. *Genetics*, v.148, p. 1055-1567, 1998.

HAWKSWORTH, D. L. The magnitude of fungal diversity: 1,5 million species estimate revised. *Mycological Research*, v. 105, p. 1422-1432, 2001.

HINOJO, M. et al. Fumonisin production in rice cultures of *Fusarium verticillioides* under different incubation conditions using an optimized analytical method. *Food Microbiology*, v. 23, p. 119-127, 2006.

HUSSEIN, H.S.; BRASEL, J.M. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicol*, v. 167, 101-134, 2001.

IAMANAKA, B. T.; TANIWAKI, M. H.; OLIVEIRA, I. S. Micotoxinas em Alimentos. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica*, Recife, v. 7, p.138-161, 2010.

International Mycological Association. Mycobank Database. [Online].; 2015 [cited] 2020 maio 15. Available from: "www.mycobank.org".

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). *Some occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins*. IARC. *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Lyon, IARC, v. 56, p. 445 – 446, 1993.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. Trad. Eduardo Cesar Tondo. Rio Grande do Sul (Porto Alegre): Artmed, 710p., 2005.

JOBIM, C. C., GONÇALVES, G. D.; SANTOS, G. T. **Qualidade Sanitária de Grãos e de Forragens Conservadas “versus” Desempenho Animal e Qualidade de seus Produtos**. Anais do Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas. Maringá, p.242-261, 2001.

JUNIOR, S. N.; NOGUEIRA, E. A. Centrais Regionais de Armazenagem como apoio à Comercialização de Grãos: Panorama do Mercado Agrícola. Instituto de Economia Agrícola. **Informações Econômicas**, v.37, n.7, Julho de 2007.

JUNIOR, M. C.; JOBIM, C. C.; OSMARI, M. P; TRES, T. T. Nutritional additives in high moisture corn silage. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, p. 105-111. 2017.

KAWASHIMA, Luciane Mie. **Micotoxinas em alimentos e bebidas nacionais produzidas e comercializadas em diferentes regiões do Brasil**. 2004. 110 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 516-521, 2006.

KELLER, K. M. et al. The mycobiota and toxicity of equine feeds. **Veterinary Research Communications**, v. 31, n. 8, p. 1037-1045, 2007.

Klich MA. Identification of common Aspergillus species Wageningen: Centralbureau voor Schimmelcultures; 2002

KOZAKIEWICZ, Z. *Aspergillus species on stored products*. **Mycological** n. 161, 1. CAB International Mycological Institute, Kew, 1989.

LAZZARI, F.A.; LAZZARI, S.M.; GOMES, J. **Avaliação das práticas e das condições do armazenamento de grãos no Brasil**. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA, 6, 2001, Londrina. Anais. Londrina: CNPq, FAPEAGRO, UFPR e IAPAR, 2001. 13p.

LAZZARI, F.A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2a Edição. Curitiba, Ed. do Autor, 140p, 1997.

Leslie JF, Summerell BA. *The Fusarium Laboratory Manual*: Wiley-Blackwell; 2006.

LEWIS, C. T. et al. Identification of Fungal DNA barcode targets and PCR primers based on Pfam protein families and taxonomic hierarchy. **The open Applied Informatics Journal**. p. 30-44, 2011.

LEWIS, L. et al. Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya. **Environmental Health Perspectives**. p. 1763-1767, 2005.

LIMA, Anieli Peralva. **Avaliação do uso do sistema de código de barras de dna para identificação de fungos potencialmente micotoxigênicos isolados de milho e derivados**. 2015. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciência) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Belo Horizonte, 2015.

Link HF. Observations in Ordines plantarum naturales. Dissertatio 1ma. Magazin der Gesellschaft Naturforschenden Freunde Berlin. 1809: p. 3-42.

LOPES, D. C. et al. Perda de peso e mudanças na composição química do milho (*Zea mays*, L.) devido ao carunchamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 17, n. 4, p. 367-371, 1988.

LUDEMANN, V. et al. Conidial production by *Penicillium nalgiovense* for use as starter cultures in dry fermented sausages by solid state fermentation. **Food Science and Technology**. p. 315-318, 2010.

MACHINSKI-JR, M.; VALENTE SOARES, L. M. Fumonisin B1 and B2 in Brazilian corn-based food products. **Food Additives and Contaminants**, v. 17, p. 875-879, 2000.

MADIGAN, M.T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12. ed., Porto Alegre: Artmed, 1160 p, 2010.

- MALLMANN A. O. et al. Comparison of the efficiency between two sampling plans for aflatoxins analysis in maize. **Brazilian Journal of Microbiology**. p. 35-42, 2014.
- MALLMANN, C., SANTURIO, J.M., DILKIN, P., *et al.* Incidência de fumonisina B₁ em milho e rações no Brasil. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE MICOTOXICOLOGIA, 7, 1997, Maracay, Venezuela. **Anais...** Maracay : Sociedad Latinoamericana de Micotoxicologia, 1997. p.73
- MARCIA B. A.; LAZZARI F. A. Monitoramento de fungos em milho em grão, grãos e fubá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18 n. 4, 1998.
- MARCIA, B. A.; LAZZARI, F. A. Monitoramento de fungos no milho em grão, grãos e farinha de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n.4, p.363-367, 1998.
- MARIN, S. et al. Environmental-factors, in-vitro interactions, and niche overlap between *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*, and *F. graminearum*, *Aspergillus* and *Penicillium* species from maize grain. **Mycological Research**, v. 102, n. 7, p. 831-837, 1998.
- MARQUARDT, R.R. e FROHLISH, A.A. A review of recent advances in understanding ochratoxycosis. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3968-3988, 1992.
- MATHIAS, T.R.S.; MENEZES, L.M.; SÉRVULO, E.F.C. Effect of maize as adjunct and the mashing proteolytic step on the brewer wort composition. **Beverages**, v. 5, n. 4, 2019.
- MAZIERO, M.; BERSOT, L.; Micotoxinas em Alimentos Produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.12, n.1, p.89-99, 2010.
- MENTEN, J.F.M.; LONGO, F.A.; PEDROSO, A.A. et al. Valores de energia metabolizável de milho e farelo de soja para frangos de corte na fase pré-inicial. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002.
- MICHIELSE, C.; REP, M. Pathogen profile update : *Fusarium oxysporum*. **Molecular plant pathology**, v. 10, p. 311–324, 2009.
- MILLS, J. T. Ecology of mycotoxigenic *Fusarium* species on cereal seeds. **Journal Food Protection**, v. 52, p. 737-42, 1989.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, Instrução Normativa MAPA 40/2010, mai., 2018.

MISLIVEC, P. B. et al. Effect of other toxigenic molds species on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in sterile broth shake culture. **Journal of Food Protection**, v. 51, p. 449-451, 1988.

MOTTA, T. P. et al. Estudo sobre a ocorrência de fungos e aflatoxina B1 na dieta de bovinos leiteiros em São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n.1, p. 23 – 28, 2015.

NEUMANN, M., LEÃO, G. F. M., COELHO, M. G., FIGUEIRA, D. N., SPADA, C. A. & PERUSSOLO, L. F. Aspectos produtivos, nutricionais e bioeconômicos de híbridos de milho para produção de silagem. **Archivos de Zootecnia**, v. 66, p. 51-58, 2017.

NIELSEN, J. Modelling the growth of filamentous fungi. **Advances in Biochemical Engineering**, v. 46, p. 188-223, 1992.

NIELSEN, J. Modelling the morphology of filamentous microorganisms. **Trends in Biotechnology**, v. 14, n. 11, p. 438-443, 1996.

NUNES, E. M. C. G. **Microbiota fúngica nos ingredientes e em ração para piscicultura**. 58 f., 2009. Dissertação de mestrado em Ciência Animal, Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina.

OLIVEIRA, E. et al. **Doenças do milho: identificação e controle**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2005. 84p.

O'DONNELL, K. et al. A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: detection of additional phylogenetic distinct species. **Mycoscience**. p. 61-78, 2000.

PARAGINSKI, R. T. **Efeitos da temperatura de armazenamento de grãos de milho (*Zea mays* L.) nos parâmetros de qualidade tecnológica, metabólitos e propriedades do amido**. 2013. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

PATINDOL, J.; WANG, Y. J. Fine structures and physicochemical properties of starches from chalky and translucent rice kernels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 9, p. 2777-2784, 2003.

Pelczar vol. 1, capítulo 10, pags. 258-271, 1996. - **Manual de Fitopatologia** v. 1, cap. 8, 2011.

PEZZINI, V; VALDUGA, E; CANSIANI, R. L. **Incidência de fungos e micotoxinas em grãos de milho armazenados sob diferentes condições**. Rev. Inst. Adolfo Lutz. Vol.64, nº.1 São Paulo, 2005.

PERRONE, G. et al. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. **Studies in Mycology**, p. 53-66, 2007.

PIMENTEL, M. A. G; FONSECA, M. J. O. **Cultivo do Milho: Secagem e Armazenagem**. Embrapa Milho e Sorgo Sistema de Produção, (ISSN 1679-012X Versão Eletrônica). 7ªed, 2011.

PINTO, N. F. J. **Grãos ardidos em milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2005. 6p. (Circular Técnica, 66).

PINTO, N. F. J. A. et al. Qualidade sanitária e produção de fumonisina B1 em grãos de milho na fase de pré-colheita. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.3, p.304-306, 2007.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. 3rd. ed. 519p. Dordrecht Springer, 2009.

Pitt JI, Hocking AD. *Aspergillus and Related Teleomorphs*. 3rd ed.: Springer US; 2009.
_____. *Fungi and Food Spoilage*. 2nd ed. Maryland: Aspen; 1999.

POZZI, C. R. et al. Aspectos Relacionados à Ocorrência e Mecanismo de Ação de Fumonisinas. **Ciência Rural**, v. 32, n. 5, p. 901-907, 2002.

PRADO, G. Contaminação de alimentos por micotoxinas no Brasil e no mundo. **Revista de Saúde Pública do SUS/MG**. p. 11-24, 2014.

PRESTES, I. D.; ROCHA, L. O.; NUÑEZ, K. V. M; SILVA, N. C. C. Principais fungos e micotoxinas em grãos de milho e suas consequências. **Scientia Agropecuaria**, v. 10, n.4, p.559-570, 2019.

PROSSER, J. I.; TOUGH, A. J. Growth mechanisms and growth kinetics of filamentous microorganisms. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 253-274, 1991.

PROSSER, J. I.; TRINCI, A. P. A model for hyphal growth and branching. **Journal of general microbiology**, v. 111, p. 153-64, 1979.

QUEIROZ, A. M. et al. Avaliação bromatológica de milho armazenado em embalagens com ausência de oxigênio e umidade. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p.38942 – 38959, 2020.

RAISUDDIN, S. Toxic responses to aflatoxins in a developing host. **Journal of Toxicology: Toxin Review**, v. 12, p. 175-201, 1993.

RAMOS, A. T. M. et al. Levantamento da micoflora presente em grãos ardidos e sementes de milho. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 3, p. 257 -259, 2010.

RAMOS, C. R. B. A. et al. Contaminação por aflatoxinas em híbridos de milho cultivados em três regiões do Estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n. 2, p. 95 -102, 2008.

RAPER, K. B, FENNEL, D. I. **The Genus Aspergillus Baltimore**: Williams & Wilkins; 1965.

RAPER, K. B.; FENNEL, D. I. **The genus Aspergillus**. New York: Krieger Publishing 1997.

RAPER K. B.; THOM, C. **A manual of the penicillia Baltimore**: The Williams & Wilkins Company; 1949.

REGES et., al., 2016. IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS E MICOTOXINAS EM GRÃO DE MILHO. **Cultura Agrônômica, Ilha Solteira**, v.25, n.2, p.147-154, 2016.

REIS, G. M. **Distribuição de fungos, fumonisinas e expressão de genes diversão em transgênica grão de milho da semeadura até a colheita**. 2014. 117 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas da USP, São Paulo, 2014.

RIOS, A. O. et al. Efeito da estocagem e das condições de colheita sobre algumas propriedades físicas, químicas e nutricionais de três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Revista Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.39-45, 2003.

ROCHA, M. E. B. et al. Mycotoxins and their effects on human and animal health. **Food Control**. p. 159-165, 2014.

- ROSTAGNO, H. S. Disponibilidade de nutrientes em grãos de má qualidade. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1993, Santos. Anais... Campinas: Facta, 1993. p. 129-139.
- SAMSOM R. A; Varga J. What is a species in *Aspergillus*? *Medical Mycology*. 2009: p. 13-20.
- SANTOS, J. P. **Controle de Pragas Durante o Armazenamento de Milho**. Circular Técnica 84. Sete Lagoas, p.1-20, 2006.
- SANTOS, G., MORAES, J. M. M.; NUSSIO, L. G. Custo e análise de sensibilidade na produção de silagem. **Revista iPecege**, v. 3, p. 39- 48, 2017.
- SARQUIS, M. I. M. **Gêneros *Aspergillus* e *Penicillium***. Rio de Janeiro: FIOCRUZ Departamento de Micologia, 33 p. 1993.
- SASSAHARA, M.; YANAKA, E. K.; NETTO, D. P. Ocorrência de aflatoxina e zearalenona em alimentos destinados ao gado leiteiro na região Norte do Estado do Paraná. **Semina**, v.24, p. 63- 72, 2003.
- SAVI, G. D. et al. Effect of zinc compounds on *Fusarium verticillioides* growth, hyphae alterations, conidia, and fumonisin production. **Journal Science Food Agriculture**, v. 93, p. 3395–3402, 2013.
- SAVI, Geovana D.; PIACENTINI, Karim C.; KREIBICH, Heloisa H.; STEIN, Stephanie M.; SANTOS, Karolina; MARTINS, Camila; PEREIRA, Maria E. V.; SCUSSEL, Vildes M. **Contamination by mycotoxins in grains Rice (*Oryza sativa* L.) and its products - flour, meal and grits**. Anais da Conferência Brasileira de pós-colheita, 411-419p, 2014.
- SCAFF, R. M. C.; SCUSSEL, V. M. Fumonisin B1 and B2 in Corn-Based Products Commercialized in the State of Santa Catarina – Southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n.6, p.911-919, 2004.
- SCHMIELE, Marcio. Caracterização das Frações com Diferentes Granulometrias de Milho Dentado e Duro e Avaliação na Qualidade de Extrusados Expandidos. 2009. 223 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2009.
- SEIFERT, K. Fuskey-Fusarium interactive key. *Agriculture and AgriFood*, Canada, 1996.

- SILVA, A. C. S.. **Fumonisin em produtos de milho: Metodologia, análise e avaliação de risco**. 2005. 134f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Univesidade de Brasília, Distrito Federal, 2005.
- SILVA, J. B. et al. Mycoflora and occurrence of aflatoxin B₁ and fumonisin B₁ during storage of brazilian sorghum. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.48, p. 4352-4356, 2001.
- SILVA, J. S. **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**. Editora Aprenda Fácil. Viçosa- MG. p. 34-53. 2008.
- SMANIOTTO, T. A. S. et al. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n.4, p. 446-453, 2014.
- SOARES, L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi toxin thin layer chromatographic method. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, p. 22-26, 1989.
- STEYN, P.S. *Ochratoxins and relate dihydroisocoumarins*. In: BETINA, V. (ed.), *Mycotoxins: Production, Isolation, Separation and Purification*. Elsevier Science Publishers, 183-216, 1984.
- SUMMERELL, B. A. et al. An utilitarian approach to Fusarium identification. **Plant disease**, p. 117-128, 2003.
- TANAKA, M. A. S. et al. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamento. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 3, 501- 508, 2001.
- TERRASAN, C. R. et al. Production of xylanolytic enzymes by *Penicillium janczewskii*. **Bioresource Technology**. p. 4139-4143, 2012.
- TRINCI, A. P. J. Influence of the width of the peripheral growth zone on the radial growth rate of fungal colonies on solid media. **Journal of General Microbiology**, v. 67, p. 325-344, 1971.
- VALMORBIDA, R. Quality and safety of maize (*Zea mays* L.) from Rondônia state storage units, Northern Brazil. **Food Microbiology**, p. 54-63, 2018.

VIEIRA, N. R. de A.; RABELO, R. R. Qualidade tecnológica. In: SANTOS, A. B. dos; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. de A. (Ed.). A cultura do arroz no Brasil. 2. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. p. 869-900.

WEBSTER. J.; WEBER, R. **Introduction to fungi**. 3. ed. Nova York: Cambridge University Press, 2007.

WOLOSHUK, C. P.; SHIM, W. Aflatoxins, fumonisins, and trichothecenes: a convergence of knowledge. **Microbiology reviews**, v. 37, p. 94–109, 2013.

YANAKA, E.K. et al. Avaliação da presença de micotoxinas em milho e rações destinadas à avicultura comercial de postura nas regiões norte e noroeste do Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, p.79, 2004.

ZAIN, M. E. Impact os mycotoxins on humans and animals. **Journal of Saudi Chemical Society**, p. 129-144, 2011.

ZANOTTO, D. L.; CUNHA JUNIOR, A.; LUDKE, J. U.; COLDEBELA, A. (2016). Análise de granulometria de milho moído. Concórdia: Embrapa suínos e aves, 5 p. (Comunicado técnico, 536).

ANEXO

ANEXO I – Instrução normativa nº 60/2011, MAPA para Classificação de Milho

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

GABINETE DO MINISTRO

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 60, DE 22 DE DEZEMBRO DE 2011

O MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 87, parágrafo único, inciso II, da Constituição, tendo em vista o disposto na Lei nº 9.972, de 25 de maio de 2000, no Decreto nº 6.268, de 22 de novembro de 2007, no Decreto nº 5.741, de 30 de março de 2006, na Portaria MAPA nº 381, de 28 de maio de 2009, e o que consta do Processo nº 21000.010492/200968, resolve:

Art. 1º Estabelecer o Regulamento Técnico do Milho na forma da presente Instrução Normativa.

Parágrafo único. Este Regulamento Técnico não se aplica ao milho pipoca, sujeito à regulamentação específica.

CAPÍTULO I - DAS DISPOSIÇÕES PRELIMINARES

Art. 2º O presente Regulamento Técnico tem por objetivo definir o padrão oficial de classificação do milho, considerando seus requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto.

Art. 3º Para efeito deste Regulamento Técnico, considerase:

I milho: os grãos provenientes da espécie *Zea mays* L.;

II grãos carunchados: os grãos ou pedaços de grãos que se apresentam atacados por insetos considerados pragas de grãos armazenados em qualquer de suas fases evolutivas;

III grãos avariados: os grãos ou pedaços de grãos que se apresentam ardidos, chochos ou imaturos, fermentados, germinados, gessados e mofados:

a) ardidos: os grãos ou pedaços de grãos que apresentam escurecimento total, por ação do calor, umidade ou fermentação avançada atingindo a totalidade da massa do grão, sendo também considerados como ardidos, devido à semelhança de aspecto, os grãos totalmente queimados;

b) chochos ou imaturos: os grãos desprovidos de massa interna, enrijecidos e que se apresentam enrugados por desenvolvimento fisiológico incompleto, sendo que os grãos

pequenos e os de endosperma córneo (ponta de espiga) não serão considerados chochos ou imaturos, sendo considerados grãos normais;

c) fermentados: os grãos ou pedaços de grãos que apresentam escurecimento parcial do germe ou do endosperma provocado por processo fermentativo ou calor, sendo também considerados como fermentados, devido à semelhança de aspecto, os grãos que se apresentam parcialmente queimados; grãos que apresentam plúmula roxa, como característica varietal, não são considerados grãos defeituosos;

d) germinados: os grãos ou pedaços de grãos que apresentam início visível de germinação;

e) gessados: os grãos ou pedaços de grãos que tenham sofrido variação na sua cor natural, apresentando-se de esbranquiçado ao opaco, mostrando no seu interior todo o endosperma amiláceo com cor e aspecto de gesso (farináceo);

f) mofados: os grãos ou pedaços de grãos que apresentam contaminações fúngicas (mofo ou bolor) visíveis a olho nu, independentemente do tamanho da área atingida, bem como os grãos ou pedaços de grãos que apresentam coloração esverdeada ou azulada no germe, produzida pela presença de fungos;

IV grãos quebrados: os pedaços de grãos que vazarem pela peneira de crivos circulares de 5,00 mm (cinco milímetros) de diâmetro e ficarem retidos na peneira de crivos circulares de 3,00 mm (três milímetros) de diâmetro;

V impurezas: pedaços de grãos que vazarem pela peneira de crivos circulares de 3,00 mm (três milímetros) de diâmetro, bem como detritos do próprio produto que ficarem retidos nas peneiras de crivos circulares de 5,00 mm (cinco milímetros) e de 3,00 mm (três milímetros) de diâmetro, que não sejam grãos ou pedaços de grãos de milho;

VI matérias estranhas: os corpos ou detritos de qualquer natureza, estranhos ao produto, tais como grãos ou sementes de outras espécies vegetais, sujidades, insetos mortos, entre outros;

VII matérias macroscópicas: aquelas estranhas ao produto que podem ser detectadas por observação direta, a olho nu, sem auxílio de instrumentos ópticos e que estão relacionadas ao risco à saúde humana, segundo legislação específica;

VIII matérias microscópicas: aquelas estranhas ao produto que somente podem ser detectadas com auxílio de instrumentos ópticos e que estão relacionadas ao risco à saúde humana, segundo legislação específica;

IX organismo geneticamente modificado (OGM): aquele cujo material genético (Ácido Desoxirribonucleico ADN e Ácido Ribonucleico ARN) tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética;

X substâncias nocivas à saúde: as substâncias ou agentes estranhos, de origem biológica, química ou física, que sejam nocivos à saúde, tais como: as micotoxinas, os resíduos de produtos fitossanitários ou outros contaminantes, previstos em legislação específica, não sendo assim considerados aqueles cujo valor se verifica dentro dos limites máximos previstos; e XI umidade: o percentual de água encontrada na amostra do produto isenta de matérias estranhas e impurezas, determinado por um método oficial ou aparelho que dê resultado equivalente.

Parágrafo único. Os grãos de milho que apresentarem alterações ou anormalidades não mencionadas neste artigo serão considerados grãos normais.

CAPÍTULO II - DA CLASSIFICAÇÃO E TOLERÂNCIAS

Art. 4º A classificação do milho é estabelecida em função dos seus requisitos de identidade e qualidade.

§ 1º O requisito de identidade do milho é definido pela própria espécie do produto na forma disposta no inciso I do art. 3º desta Instrução Normativa.

§ 2º Os requisitos de qualidade do milho são definidos em função da consistência e do formato, da coloração do grão e dos limites máximos de tolerância estabelecidos na Tabela 1 desta Instrução Normativa.

Art. 5º O milho será classificado em Grupos, Classes e Tipos, conforme o disposto a seguir:

§ 1º O milho, de acordo com a consistência e o formato do grão, será classificado nos seguintes Grupos:

I duro: quando apresentar o mínimo de 85% em peso de grãos com as características de duro, ou seja, apresentando endosperma predominantemente córneo, exibindo aspecto vítreo; quanto ao formato, considera-se duro o grão que se apresentar predominantemente ovalado e com a coroa convexa e lisa;

II dentado: quando apresentar o mínimo de 85% em peso de grãos com as características de dentado, ou seja, com consistência parcial ou totalmente farinácea; quanto ao formato, considera-se dentado o grão que se apresentar predominantemente dentado com a coroa apresentando uma reentrância acentuada;

III semiduro: quando apresentar o mínimo de 85% em peso de grãos com consistência e formato intermediários entre duro e dentado; e

IV misturado: quando não estiver compreendido nos grupos anteriores, especificando-se no documento de classificação as percentagens da mistura de outros grupos.

§ 2º O milho, de acordo com a coloração do grão, será classificado nas seguintes classes:

I amarela: constituída de milho que contenha no mínimo 95% (noventa e cinco por cento), em peso, de grãos amarelos, amarelo pálido ou amarelo alaranjado; o grão de milho amarelo com ligeira coloração vermelha ou rósea no pericarpo será considerado da classe amarela;

II branca: constituída de milho que contenha no mínimo 95% (noventa e cinco por cento), em peso, de grãos brancos; o grão de milho com coloração marfim ou palha será considerado da classe branca;

III cores: constituída de milho que contenha no mínimo 95% (noventa e cinco por cento), em peso, de grãos de coloração uniforme, mas diferentes das classes amarela e branca; o grão de milho com ligeira variação na coloração do pericarpo será considerado da cor predominante; e

IV misturada: constituída de milho que não se enquadra em nenhuma das classes anteriores.

§ 3º O milho será classificado em 3 (três) Tipos de acordo com a sua qualidade e definidos pelos limites máximos de tolerâncias estabelecidos na Tabela 1 desta Instrução Normativa, podendo ainda ser enquadrado como Fora de Tipo ou Desclassificado:

Tabela 1. Limite máximo de tolerância expressos em percentual (%).					
Enquadramento	Grãos avariados (ardidos)	Total de avariados	Grãos quebrados	Matérias estranhas e impurezas	Carunchados
Tipo 1	1,00	6,00	3,00	1,00	2,00
Tipo 2	2,00	10,00	4,00	1,50	3,00
Tipo 3	3,00	15,00	5,00	2,00	4,00
Fora de tipo	5,00	20,00	Maior que 5,00	Maior que 2,00	8,00

I será considerado como Fora de Tipo o milho que não atender os parâmetros estabelecidos para o Tipo 3 na Tabela 1 desta Instrução Normativa:

a) o milho enquadrado como Fora de Tipo por grãos ardidos, total de avariados ou carunchados poderá ser comercializado como se apresenta, desde que identificado como

Fora de Tipo, ou poderá ser rebeneficiado, desdobrado ou recomposto para efeito de enquadramento em tipo;

b) o milho enquadrado como Fora de Tipo por grãos quebrados ou matérias estranhas e impurezas não poderá ser comercializado como se apresenta, devendo ser rebeneficiado, desdobrado ou recomposto para efeito de enquadramento em tipo; e

c) o milho que apresentar insetos vivos ou outras pragas de grãos armazenados não poderá ser comercializado como se apresenta, devendo ser expurgado ou submetido à outra forma eficaz de controle antes da sua comercialização;

II será desclassificado e proibida a sua comercialização e a sua entrada no País o milho que apresentar na carga, no lote ou na amostra a ser analisada uma ou mais das situações indicadas a seguir:

a) mau estado de conservação, incluindo aspecto generalizado de mofo ou fermentação;

b) presença de sementes tratadas ou sementes tóxicas;

c) odor estranho, impróprio ao produto, que inviabilize a sua utilização para o uso proposto; e

d) limites de tolerâncias acima do estabelecido para os defeitos ardidos, total de avariados ou carunchados previstos na Tabela 1 desta Instrução Normativa para Fora de Tipo.

Art. 6º Ao ser constatada uma das características desclassificantes do produto, a entidade credenciada para a execução da classificação deverá emitir o correspondente Laudo de Classificação enquadrando o produto como Desclassificado.

Parágrafo único. Na hipótese do caput deste artigo, deve ser informado o fato à Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento SFA, da Unidade da Federação onde o produto se encontra estocado, para que sejam adotados os procedimentos de classificação de fiscalização.

Art. 7º Caberá à SFA da Unidade da Federação adotar as providências cabíveis quanto ao destino do produto desclassificado, podendo para isso articular-se, no que couber, com outros órgãos oficiais .

Art. 8º No caso de o produto desclassificado poder ser utilizado para outros fins que não seja o uso proposto, a SFA da Unidade da Federação deverá estabelecer os procedimentos necessários ao acompanhamento do produto até a sua completa descaracterização ou destruição, se for caso, cabendo ao proprietário do produto ou ao seu representante, além de arcar com os custos pertinentes à operação, ser o seu depositário.

Art. 9º O MAPA poderá efetuar análises de substâncias nocivas à saúde, matérias macroscópicas, microscópicas e microbiológicas relacionadas ao risco à saúde humana, e análise para detecção de OGM, de acordo com a legislação específica, independentemente do resultado da classificação do produto.

§ 1º O produto será desclassificado quando se constatar a presença das substâncias de que trata o caput deste artigo em limites superiores ao máximo estabelecido na legislação específica, ou, ainda, quando se constatar a presença de substâncias não autorizadas para o produto.

§ 2º O ônus das análises a que se refere o caput deste artigo será do responsável pelo produto ou do seu representante.

CAPÍTULO III - DOS REQUISITOS E DOS PROCEDIMENTOS GERAIS

Art. 10. O milho deverá se apresentar fisiologicamente desenvolvido, são, limpo e seco, observadas as tolerâncias estabelecidas na Tabela 1 desta Instrução Normativa.

Art. 11. O percentual de umidade tecnicamente recomendado para fins de comercialização do milho será de até 14,0% (catorze por cento).

§ 1º O milho que apresentar umidade superior à recomendada neste Regulamento Técnico poderá ser comercializado, devendo a informação relativa ao percentual de umidade constar no Documento de Classificação do produto.

§ 2º Caberá às partes interessadas ou envolvidas no processo de comercialização do produto as responsabilidades quanto ao manuseio, uso apropriado e demais cuidados necessários à conservação do produto com umidade acima do previsto no caput deste artigo.