

INCIDÊNCIA DE FUNGOS E DE MICOTOXINAS DURANTE O ARMAZENAMENTO DE GRÃOS DE MILHO

Muriel Gaio, João Anaracy Santin*

*Laboratório de Micotoxinas, Centro de Pesquisa em Alimentação e Laboratório de Fitopatologia,
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo
santin@upf.br

RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais de maior importância econômica para o Rio Grande do Sul e para o Brasil, devido a sua participação na maioria dos alimentos da cadeia alimentar humana e animal. O milho é suscetível a várias doenças, causadas principalmente por fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, podendo estes também produzir micotoxinas. O armazenamento de grão tem por finalidade preservar a qualidade e as propriedades nutritivas dos mesmos, portanto, objetivou-se avaliar a incidência de fungos e micotoxinas em função do período de armazenamento de grãos de três variedades de milho. Amostras de grãos de milho do tipo mole, semiduro e duro da safra agrícola 2003/2004, com teor de umidade de aproximadamente entre 13 a 15%, foram armazenados em ambiente não controlado (sem monitoramento de temperatura e umidade relativa). A incidência de fungos dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*, foi determinada por plaqueamento direto em meio BDA. A determinação de fumonisinas e ocratoxina foi realizada por HPLC e GCMS. Os fungos do gênero *Fusarium* apresentaram decréscimo de incidência com o decorrer do período de armazenamento, enquanto que, o gênero *Aspergillus* apresentou elevação de incidência. Foi detectada fumonisina B1 nos grãos de milho do tipo mole e duro.

Palavras chave: *Zea mays*, incidência de fungos

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais de maior importância econômica e social para o estado do Rio Grande do Sul, devido a sua participação na cadeia alimentar humana e animal.

O armazenamento de grãos de milho em silos tem o objetivo de manter a quantidade e as propriedades nutritivas do produto até o seu consumo ou industrialização. Os grãos de milho têm boa capacidade de armazenamento e o tempo de sua conservação aumenta quando se reduzem a umidade e a temperatura da massa de grãos, sendo a umidade dos grãos o fator principal.

A colonização por fungos em grão armazenados é a causa de deterioração do produto diminuindo seu valor nutritivo o ocasionando a possível ocorrência de micotoxinas. As micotoxinas recebem atenção especial, pois são fontes potenciais de perigo para animais e humanos, causando micotoxicoses e até a morte. Entre as micotoxinas que ocorrem em milho enfatizam-se as fumonisinas, produzidas por fungos de gênero *Fusarium*, sendo citadas com maior frequência as espécies de *F. moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. nygamai*, *F. anthophilium* e *F. napiforme* (THIEL ET AL., 1991; NELSON ET AL., 1992) e as ocratoxinas, produzidas pelas espécies *Aspergillus alutaceus* (= *A. ochraceus*) e *Penicillium verrucosum* e *P. veridicatum* (MARQUART & FROHLIC, 1992).

O objetivo deste trabalho foi verificar a incidência de fungos e micotoxinas durante o armazenamento de grãos de milho em ambiente não controlado.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Material e métodos

Amostras de grãos de milho dos tipos mole, semiduro e duro foram armazenadas em ambiente não controlado (sem monitoramento da temperatura e umidade relativa) por um período de doze meses.

Foram monitoradas a incidência de fungos dos gêneros *Aspergillus* (Asp sp) e *Penicillium* (Pen sp) e *Fusarium graminearum* (Fgram) e *Fusarium moniliforme* (Fmon) dos três tipos de milho pelo método descrito por FERNANDEZ (1993), em meio um quarto BDA, utilizando sub-amostras de 200 grãos, previamente desinfetadas com hipoclorito de sódio 2%, durante 2 min e enxaguados, duas vezes, em água destilada. As placas foram incubadas em câmara de crescimento de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12h, por um período de 5 a 7 dias. Foram empregadas 4 repetições de 50 grãos. Os resultados foram expressos em percentagem de incidência de fungos (%).

Foi avaliada a presença de fumonisinas B1 e B2 e ocratoxina nos grãos de milho no início e ao final dos 12 meses de armazenamento por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GCMS).

O teor de umidade dos grãos foi determinado pelo Método de Reflectância do Infravermelho Proximal (NIRS).

Os resultados foram avaliados por ANOVA e Teste de Tukey utilizando o programa *Statistica 5.5*.

2.2 Resultados e discussão

A Tabela 1 apresenta os resultados de incidência de fungos, em percentagem, para os três tipos de grãos de milho, considerando o período de armazenamento e o teor de umidade dos grãos.

Tabela 1 Incidência de fungos (%) e teor de umidade (%) em grãos de milho em função do período de armazenamento

Tipos de grãos	Fungos e teor de umidade (%)	Incidência de fungos (%) e período de armazenamento (dias)			
		0	120	240	360
Mole	Fgram	4,22a	0,45b	0,20b	0,00b
	Fmon	17,40a	10,05b	2,92c	2,37c
	Asp sp	0,00c	0,77b	0,75b	2,75a
	Pen sp	17,85c	17,85c	23,30a	20,20b
	Umidade	15,21b	15,65a	14,41d	14,90c
Semiduro	Fgram	17,30a	12,95b	0,00c	0,00c
	Fmon	18,47a	9,37b	2,85c	1,32c
	Asp sp	0,00b	0,12b	0,20b	1,00a
	Pen sp	28,95b	37,32a	31,02b	22,92c
	Umidade	14,23b	15,13a	14,17b	14,12b
Duro	Fgram	9,87a	3,30b	0,00c	0,00c
	Fmon	16,00a	11,75b	2,75c	1,30c
	Asp sp	0,00c	0,00c	1,60b	3,42a
	Pen sp	30,75a	19,50c	23,60b	22,17bc
	Umidade	13,93b	14,74a	13,51d	13,92b

Resultados seguidos da mesma letra, nas linhas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a intervalo de confiança de 95%.

As Figuras 1, 2, 3 apresentam os gráficos de incidência dos fungos (%) dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* nos grãos de milho armazenados pelo período de 12 meses.

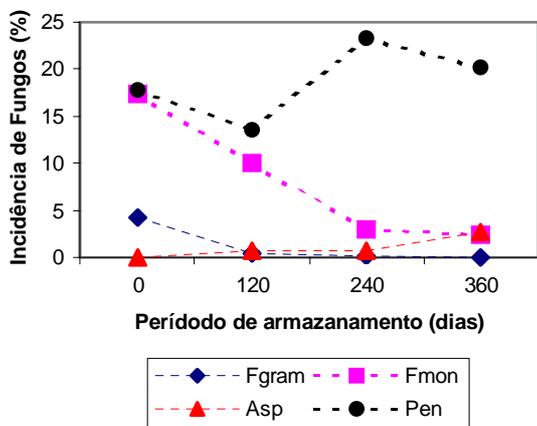


Figura 1 Incidência de fungos nos grãos do tipo mole em função do período de armazenamento

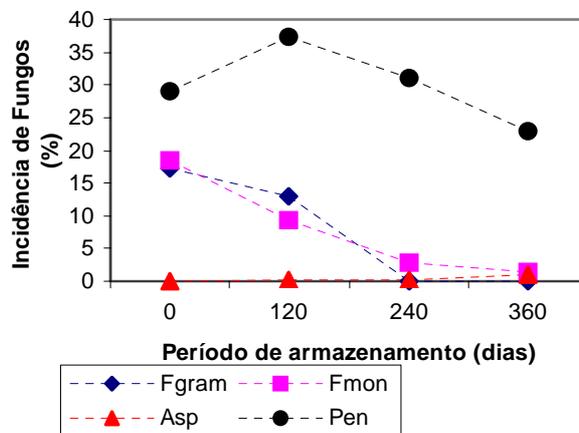


Figura 2 Incidência de fungos nos grãos do tipo semiduro em função do período de armazenamento

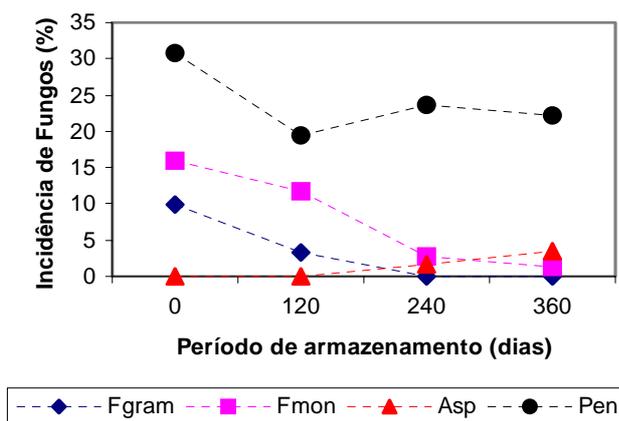


Figura 3 Incidência de fungos nos grãos do tipo duro em função do período de armazenamento

Os fungos do gênero *Fusarium* indicaram decréscimo de incidência com o decorrer do período de armazenamento, visto que são designados fungos de campo, e por essa razão, no armazenamento não dispõe de umidade adequada para o crescimento. Outros aspectos que podem ser correlacionados com o abaixamento de incidência são a redução da taxa de oxigênio e a elevação do dióxido de carbono no ambiente tornando-o impróprio para a manutenção da viabilidade do inoculo. Tanaka (2001) também verificou a diminuição de incidência de *F. moniliforme* em sementes de milho armazenado por um período de doze meses sob condições de temperatura e umidade relativa não controladas.

De acordo com as Figuras 1, 2 e 3, os três tipos de grãos de milho apresentaram ausência de incidência de fungos do gênero *Aspergillus* nas avaliações iniciais, porém com o decorrer período de armazenamento houve desenvolvimento desses fungos e manifestaram elevação de incidência em todos os grãos. O gênero *Penicillium* apresentou elevada incidência em todos os grãos e em todas as avaliações.

Tabela 2 Ocorrência de micotoxinas nos três tipos de grãos de milho, no início e no final do período de armazenamento.

Milho	Tempo inicial (0 dias)			Tempo final (360 dias)		
	Fumonisinias (μ /kg)		Ocratoxina (μ /kg)	Fumonisinias (μ /kg)		Ocratoxina (μ /kg)
	B1	B2		B1	B2	
Mole	482	ND	ND	655	ND	ND
Semiduro	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Duro	275	ND	ND	315	ND	ND

ND- não detectado

Verifica-se pela Tabela 2, a ocorrência de fumonissina B1 nos grãos do tipo mole e duro, ocorrendo um aumento na quantidade de micotoxina no final do período de armazenamento. A quantidade detectada foi considerada um valor elevado, porém, no Brasil, não existe regulamentação para essa micotoxina. Apesar de a fumonissina ser produzida por fungos do gênero *Fusarium*, considerados fungos de campo, ela continuou a ser produzida apesar da redução da incidência desse gênero com o período de armazenamento. Essa micotoxina é identificada com surtos de doenças e morte de animais, além de estar estatisticamente correlacionada com o aumento do risco de câncer de esôfago em humanos consumidores de milho contaminado (MARASAS, 1995). A fumonissina B2 e a ocratoxina não foram detectadas em nenhum dos três tipos de grãos.

3 CONCLUSÃO

Os fungos do gênero *Fusarium* sofreram decréscimo de incidência com o decorrer do período de armazenamento, enquanto que, os do gênero *Aspergillus* apresentaram elevação da incidência. A incidência do gênero *Penicillium* permaneceu elevada durante todo o período.

A fumonissina B1 é produzida pelo fungo ainda na lavoura, porém verificou-se aumento desta micotoxina durante o armazenamento.

4 REFERÊNCIAS

FERNANDEZ, M. R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: Embrapa-CNPT, 1993. 128 p. (Documento, 6).

MARQUARDT, R.R. & FROHLICH, A.A. A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3868-3988, 1992.

NELSON, P. E.; et al. Fumonisin B₁ production of by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in section Liseola and by some related species. **Appl. Environmental Microbiol.**, v.58, p.984-989, 1992.

TANAKA, M. A. S. Sobrevivência de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho mantidas em duas condições de armazenamento. **Fitopat. Bras.** v 26, p.60-64, 2001.

THIEL, P.G.; et al. Survey of fumonisin production by *Fusarium* species. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.57, p.1083-1093, 1991.