

CIRCULAR TÉCNICA

n. 315 - julho 2020

ISSN 0103-4413

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Departamento de Informação Tecnológica
Av. José Cândido da Silveira, 1647 - União - 31170-495
Belo Horizonte - MG - www.epamig.br - Tel. (31) 3489-5000



AGRICULTURA,
PECUÁRIA E
ABASTECIMENTO



**MINAS
GERAIS**

GOVERNO
DIFERENTE.
ESTADO
EFICIENTE.

Incidência de fungos em grãos de milho destinados à alimentação animal provenientes de diferentes cidades de Minas Gerais¹

Wânia dos Santos Neves²
Cynthia Pires Guimarães³
Douglas Ferreira Parreira⁴
Karina Toledo da Silva⁵

INTRODUÇÃO

As micotoxinas provêm do metabolismo secundário de fungos e têm como uma das principais características um amplo espectro de toxicidade, o que pode causar patologias diversas em seres humanos e animais, tais como neoplasia, mutagênese, teratogênese e imunossupressão (RITTER; HOELTZ; NOLL, 2011; OKUMA; HUYNH; HELLBERG, 2018). Em condições favoráveis, várias espécies de fungos podem produzir micotoxinas em alimentos como o milho, por exemplo, em que sua ingestão pode levar a um quadro clínico grave em animais e humanos (JAIRAMAN; KALYANASUNDARAM, 1990). O uso de alimentos contaminados por micotoxinas, para fabricação de rações, tem sido relatado como uma grande barreira com sérias implicações econômicas para a criação de animais (MORENO *et al.*, 2009; ZAIN, 2011).

O Brasil destaca-se no cenário mundial agrícola na produção de milho. Entretanto, o sistema de produção brasileiro apresenta elevados índices de perdas de qualidade de grãos. Essas perdas são causadas por fatores como danos físicos ocorridos durante as operações de colheita, transporte, seca-

gem, beneficiamento e armazenamento, fatores climáticos e agentes biológicos, como insetos e fungos (BRASIL, 2009). O milho é um bom meio para contaminação fúngica, uma vez que o amido é o componente principal do grão. A contaminação por fungos com potencial toxigênicos, tais como *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp., pode ocorrer em grãos de milho aparentemente sadios. Por isso a importância de uma avaliação prévia de amostras destinadas ao comércio, já que a contaminação do milho como grão representa um risco à saúde do consumidor final do produto. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a incidência de fungos em amostras de milho destinado à alimentação animal que é vendido no comércio de diferentes cidades do estado de Minas Gerais.

OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO PARA ANÁLISE

Locais de aquisição

O material para análise foi obtido em casas de comércio agrícola de oito municípios de diferentes regiões do estado de Minas Gerais. Os municípios

Apoio CNPq.

¹Circular Técnica produzida pela EPAMIG Sudeste, (31) 3891-2646, epamigsudeste@epamig.br.

²Eng. Agrônoma, D.Sc., Pesq. EPAMIG Sudeste, Viçosa, MG, wanianeves@epamig.br.

³Eng. Agrônoma, D.Sc., Empresa A Horta, Montes Claros, MG, cynthiaguimaraespires@gmail.com.

⁴Eng. Agrônomo, D.Sc., Pós-Doc. UFV - Campus Florestal, Florestal, MG, douglas2002yfv@yahoo.com.br.

⁵Zootecnista, D.Sc., Pesq. EPAMIG Centro-Oeste, Prudente de Morais, MG, karinatoledo@epamig.br.

foram: Belo Horizonte e Sete Lagoas (região Centro-Oeste, Montes Claros e Janaúba (região Norte), Lavras e Ijaci (região Sul), Viçosa (Campo das Vertentes) e Rio Paranaíba (Alto do Paranaíba) (Mapa 1). Foram obtidos 500 g de milho de cada município dos quais foram retirados 200 grãos de cada amostra para análises.

Obtenção das amostras

Para obter os grãos para análise, a quantidade adquirida em cada município foi espalhada em papel craft e homogeneizada. A amostra a ser analisada foi retirada ao acaso, com o auxílio de uma espátula, de vários pontos da amostra original, até completar o número necessário para análise. O mesmo procedimento foi realizado para todos os materiais adquiridos nos diferentes municípios.

MÉTODO UTILIZADO PARA ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Montagem do teste

O método aplicado para análise da sanidade dos grãos foi o de incubação em substrato de papel de filtro (Blotter test). Esse teste é muito utilizado por não necessitar de trabalho especializado, por permitir um número alto de repetições, por ser um teste simples e, ainda assim, fornecer informações

confiáveis acerca das condições fitossanitárias das sementes. Para a realização desse teste, os grãos foram acondicionados sobre uma folha de papel de filtro umedecida com água esterilizada no interior de caixas de acrílico tipo “gerbox”, em cinco repetições representadas por uma caixa com 20 grãos cada (Fig. 1), totalizando 100 sementes com desinfestação superficial e 100 sementes sem desinfestação superficial para cada amostra. As caixas de acrílico foram tampadas e distribuídas, aleatoriamente, na câmara de incubação, com temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e mantidas por sete dias sob regime alternado de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

Desinfestação dos grãos de milho

A desinfestação superficial com hipoclorito é um procedimento importante, pois permite verificar a ocorrência de fungos internos nas sementes ou grãos (DHINGRA; ACUÑA, 1997). Assim, para observar se havia fungos no interior dos grãos, foi realizada a desinfestação superficial. Os grãos foram colocados em álcool 70% por 30 segundos, para quebra da tensão superficial; em hipoclorito de sódio 0,5% durante dois minutos, para desinfestação; e lavados com água destilada esterilizada, para retirada do hipoclorito. Os grãos sem desinfestação foram apenas lavados com água destilada esterilizada.

Mapa 1 - Municípios do estado de Minas Gerais onde foram obtidas as amostras de milho

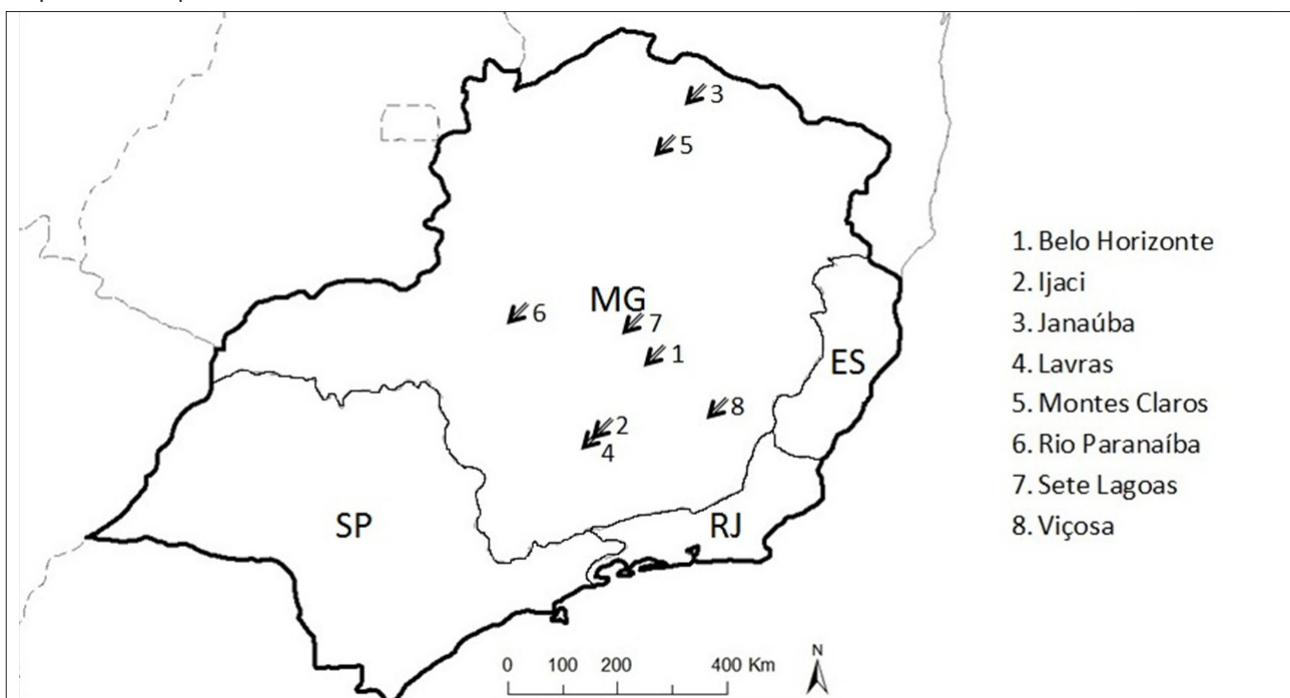
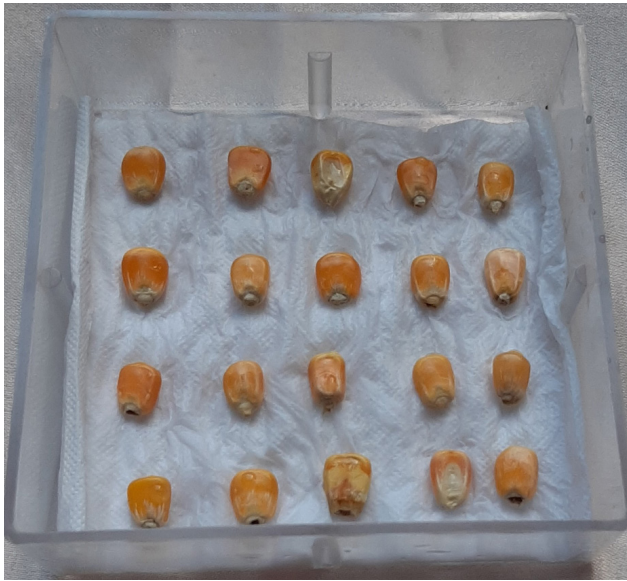


Ilustração: Douglas Ferreira Parreira.

Figura 1 - Teste de Blotter para análise da sanidade dos grãos de milho selecionados



Wânia dos Santos Neves

Nota: Caixa de acrílico com 25 grãos de milho para avaliação.

RESULTADOS OBTIDOS NAS AMOSTRAS AVALIADAS

Após período de sete dias da montagem do teste, foram feitas as avaliações examinando individualmente os grãos ao microscópio estereoscópico, para a identificação morfológica de estruturas fúngicas em nível de gênero. O resultado foi expresso em porcentagem de grãos infectados para cada fungo encontrado.

Amostras sem desinfestação superficial

Em 100% das amostras dos grãos sem desinfestação superficial foi detectada a presença dos fungos *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Trichoderma* sp. e *Rhizopus* sp. (Tabela 1). A maior porcentagem de *Aspergillus* em associação a esses grãos foi en-

contrada nas amostras provenientes da cidade de Ijaci (Sul de Minas), onde em 94% dos grãos avaliados foi observada a presença do fungo. A porcentagem de infecção de grãos pelo fungo *Penicillium* foi maior que 80% em todas as amostras avaliadas, sendo que nas amostras das cidades de Belo Horizonte, Sete Lagoas e Lavras em 100% dos grãos foi observada a presença do fungo. A porcentagem de grãos em que o fungo *Rhizopus* foi observado foi alta (acima de 80%) em grãos provenientes das cidades de Sete Lagoas, Ijaci, Viçosa e Janaúba com 89%, 97%, 99% e 100% de grãos infectados, respectivamente. Com exceção das amostras provenientes dos municípios de Viçosa e Belo Horizonte, o fungo *Fusarium* spp. foi encontrado nas amostras provenientes dos demais municípios, sendo que nas amostras de grãos provenientes de Janaúba em mais de 50% dos grãos foi observada a presença desse fungo. Na maioria das amostras foi encontrado mais de um fungo por grão (Fig. 2).

Figura 2 - Grãos de milho com presença de diferentes espécies de fungos



Fotos: Wânia dos Santos Neves

Amostras com desinfestação superficial

Na análise dos grãos com desinfestação superficial, o fungo *Penicillium* spp. foi observado em 100% das amostras (Tabela 2). Das oito cidades onde os grãos foram obtidos, apenas nas amostras

Tabela 1 - Porcentagem de grãos de milho infectados por diferentes gêneros de fungos (grãos sem desinfestação superficial) provenientes de oito municípios de Minas Gerais

Fungo	Porcentagem de infecção dos grãos por município							
	Belo Horizonte	Ijaci	Janaúba	Lavras	Montes Claros	Rio Paranaíba	Sete Lagoas	Viçosa
<i>Aspergillus</i> sp.	42	94	28	17	12	7	33	47
<i>Penicillium</i> sp.	100	97	98	100	98	99	100	81
<i>Trichoderma</i> sp.	7	26	30	25	26	32	8	26
<i>Rhizopus</i> sp.	3	97	100	8	10	66	89	99
<i>Fusarium</i> sp.	0	39	51	15	8	40	14	0

Fonte: Elaboração dos autores.

Tabela 2 - Porcentagem de grãos de milho infectados por diferentes gêneros de fungos (grãos com desinfestação superficial) provenientes de oito municípios de Minas Gerais

Fungo	Porcentagem de infecção dos grãos por município							
	Belo Horizonte	Ijaci	Janaúba	Lavras	Montes Claros	Rio Paranaíba	Sete Lagoas	Viçosa
<i>Aspergillus</i> sp.	4	15	10	0	4	0	0	6
<i>Penicillium</i> sp.	21	12	49	14	60	13	11	13
<i>Trichoderma</i> sp.	0	1	11	0	0	4	9	0
<i>Rhizopus</i> sp.	1	23	6	0	9	0	0	44
<i>Fusarium</i> sp.	3	28	50	51	17	66	80	0

Fonte: Elaboração dos autores.

da cidade de Viçosa não foi encontrado o fungo *Fusarium* spp., sendo a presença desse fungo observada em 80% dos grãos obtidos na cidade de Sete Lagoas. Os fungos *Aspergillus* spp. e *Rhizopus* sp. foram constatados em grãos obtidos de cinco das oito amostras avaliadas. Em amostras dos grãos obtidos nas cidades de Ijaci (Sul de Minas) e Janaúba (Norte de Minas) foi detectada a presença dos cinco fungos observados durante a avaliação: *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Rhizopus* sp. e *Fusarium* spp. (Tabela 2).

DANOS À SAÚDE CAUSADOS POR MICOTOXINAS

Dentre as micotoxinas mais conhecidas popularmente estão as aflatoxinas produzidas por espécies do gênero *Aspergillus*. Das espécies de *Aspergillus* que produzem essa toxina, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* são as de ocorrência mais comum na natureza (OLIVEIRA; GERMANO, 1997). A contaminação das culturas pode ocorrer no campo, antes da colheita, ou após a colheita, quando são armazenadas em condições inadequadas de umidade e temperatura. As manifestações clínicas e os órgãos atingidos por essas toxinas variam de espécie para espécie. Em rações contaminadas ocasionam sérios problemas econômicos aos produtores. A exposição aguda do organismo às aflatoxinas está relacionada com o alto consumo de alimentos contaminados em um curto período, o que pode ocasionar lesões hepáticas, como aumento da fragilidade capilar, hemorragias e até a morte em poucas horas (OKUMA; HUYNH; HELLBERG, 2018). A exposição crônica está relacionada com o consumo durante toda a vida, porém em largos períodos, o que pode acarretar efeitos mais drásticos ao organismo pelo fato de passar a produzir células cancerígenas ou até mutagênicas (OLIVEIRA; GERMANO, 1997).

Algumas espécies do gênero *Fusarium* produzem toxinas conhecidas como Zearalenona e Fumonisina (BENNET; KLICH, 2003). A ocorrência de *Fusarium* nos grãos é um fator limitante na produção e na qualidade final do produto. E um fato importante é que em muitos casos os grãos contaminados podem não apresentar qualquer indício visual de infecção fúngica. Dentre as diversas espécies de *Fusarium* que ocorrem em milho, *Fusarium verticillioides* é a de maior ocorrência nas condições brasileiras, tendo sido relatada em 76% dos grãos avaliados por Stumpf et al. (2013) provenientes do Rio Grande do Sul. É importante salientar que as micotoxinas produzidas pelo gênero *Fusarium*, dentre estas a fumonisina, são moléculas muito estáveis e uma vez produzidas, as técnicas tradicionais de processamento para alimentos e rações são ineficientes para a sua remoção (MYLONA; SULYOK; MAGAN, 2012). As fumonisinas têm efeito citotóxico e podem causar problemas no sistema nervoso, alterando a produção de neurônios em animais (SOUZA et al., 2014)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os fungos *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp., encontrados na maioria das amostras avaliadas, são bem conhecidos na deterioração de alimentos, produtos armazenados e produção de micotoxinas, o que reduz a qualidade dos alimentos e coloca em risco a saúde de quem os consome. A presença das toxinas produzidas por esses fungos em tais produtos pode acarretar problemas graves ao organismo humano e/ou animal. O fato de encontrarmos esses fungos com potencial toxigênico no milho destinado à alimentação animal, em diversos municípios do estado de Minas Gerais, serve de sinal de alerta para os produtores quanto à sanidade do material adquirido para uso em rações.

AGRADECIMENTO

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- BENNETT, J.W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v.16, n.3, p.497-516, July 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA, 2009. 398p.
- DHINGRA, O.D.; ACUÑA, R.S. **Patologia de sementes de soja**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 119p.
- JAYARAMAN, P.; KALYANASUNDARAM, I. Natural occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in rice bran. **Mycopathologia**, v.110, n.2, p.81-85, May 1990.
- MORENO, E.C. *et al.* Co-occurrence of mycotoxins in corn samples from the Northern region of Paraná State, Brazil. **Food Chemistry**, v.116, n.1, p.220-226, Sept. 2009.
- MYLONA, K.; SULYOK, M.; MAGAN, N. Relationship between environmental factors, dry matter loss and mycotoxin levels in stored wheat and maize infected with *Fusarium* species. **Food Additives & Contaminants**, v.29, n.7, p.1118-1128, 2012. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment.
- OKUMA, T.A.; HUYNH, T.P.; HELLBERG, R.S. Use of enzyme-linked immunosorbent assay to screen for aflatoxins, ochratoxin A, and deoxynivalenol in dry pet foods. **Mycotoxin Research**, v.34, n.1, p.69-75, Mar. 2018.
- OLIVEIRA, C.A.F. de.; GERMANO, P.M.L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.31, n.4, p.417-424, 1997.
- RITTER, A.C.; HOELTZ, M.; NOLL, I. B. Toxigenic potential of *Aspergillus flavus* tested in different culture conditions. **Food Science and Technology**, Campinas, v.31, n.3, p.623-628, July/Sept. 2011.
- SOUSA, F.C. *et al.* Effect of fumonisin-containing diet on the myenteric plexus of the jejunum in rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v.185, p.93-99, Oct. 2014.
- STUMPF, R. *et al.* *Fusarium* species and fumonisins associated with maize kernels produced in Rio Grande do Sul State for the 2008/09 and 2009/10 growing seasons. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.44, n.1, p.89-95, 2013.
- ZAIN, M.E. Impact of mycotoxins on humans and animals. **Journal of Saudi Chemical Society**, v.15, n.2, p.129-144, Apr. 2011.