

# Qualidade sanitária e produção de fumonisina B<sub>1</sub> em grãos de milho na fase de pré-colheita

Nicésio Filadelfo Janssen de Almeida Pinto<sup>1</sup>, Eugênia Azevedo Vargas<sup>2</sup>, Rosinalva de Almeida Preis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Milho e Sorgo, Laboratório de Patologia de Sementes e Grãos, Caixa Postal 151, 35701-970 Sete Lagoas, MG. nicesio@cnpmc.embrapa.br; <sup>2</sup>Laboratório de Controle de Qualidade e Segurança Alimentar - LACQSA/MAPA/DFA-MG/LAV-MG. Av. Raja Gabaglia, 245, Cidade Jardim, 30380-090 Belo Horizonte, MG.

Autor para correspondência: Nicésio Filadelfo Janssen de Almeida Pinto

Data de chegada: 29/08/2005. Aceito para publicação em: 17/01/2007.

1244

## RESUMO

Pinto, N.F.J.A.; Vargas, E.A.; Preis, R.A. Qualidade sanitária e produção de fumonisina B<sub>1</sub> em grãos de milho na fase de pré-colheita. *Summa Phytopathologica*, v.33, n.3, p.304-306, 2007.

Trinta e seis (36) cultivares de milho foram avaliadas em relação à incidência de grãos ardidos, mofados e produção de fumonisina B<sub>1</sub>. Amostras de 1,2 kg de grãos foram analisadas visualmente para a quantificação de grãos ardidos (*Fusarium subglutinans*), mofados (*Penicillium oxalicum*) e para a análise de fumonisina B<sub>1</sub>. Os grãos ardidos foram submetidos à análise de sanidade (papel de filtro com congelamento) visando identificar os fungos a eles associados. A cultivar Hatã 3052 apresentou 7,6% de grãos ardidos, ultrapassando o limite de tolerância que é de 6,0%. As cultivares AG 5011, HT 7105-3, Dina 1000 e C 701 apresentaram 16,8%, 3,4%, 3,2% e 3,1% de grãos mofados, respectivamente, acima do limite de tolerância que é de 3,0%. O fungo *Fusarium subglutinans* (*Gibberella fujikuroi* var.

*subglutinans*) foi o causador de grãos ardidos, cuja detecção variou de 50,0 a 99,0%. A análise de variância mostrou diferenças significativas entre as cultivares com relação às incidências de grãos ardidos e de grãos mofados. Com relação à produção de fumonisina B<sub>1</sub>, as cultivares Hatã 3052, NB 6077 e 983 P produziram 7,0; 6,1 e 5,9 µg.g<sup>-1</sup> de grãos, respectivamente, diferindo significativamente da cultivar P3071 (2,2 µg.g<sup>-1</sup> de grãos). Conclui-se que há diferenças significativas entre as cultivares de milho em relação à produção de grãos ardidos e mofados, bem como acentuada interação entre as cultivares e o fungo toxigênico *Fusarium subglutinans* (*Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans*) quanto à biossíntese de fumonisina B<sub>1</sub> em grãos de milho.

Palavras-chave adicionais: *Zea mays*, fungos, micotoxina, patologia de grãos.

## ABSTRACT

Pinto, N.F.J.A.; Vargas, E.A.; Preis, R.A. Sanitary quality and fumonisin B<sub>1</sub> production in corn grains at pre-harvest. *Summa Phytopathologica*, v.33, n.3, p.304-306, 2007.

Thirty six corn cultivars were evaluated in relation to incidence of burned (*Fusarium subglutinans*) and moldy grains (*Penicillium oxalicum*), and fumonisin B<sub>1</sub> production. The burned grains were submitted to the grain health (deep freezing), seeking to identify the fungi associated to the grains. The cultivar 'Hatã 3052' presented 7.6% of burned grains, above the tolerance limit that is of 6.0%. The cultivars 'AG 5011', 'HT 7105-3', 'Dina 1000' and 'C701' presented 16.8, 3.4, 3.2 and 3.1% of moldy grains, respectively; above the tolerance limit that is of 3.0%. *Fusarium subglutinans* (*Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans*) was the promoter of burned grains, whose detection varied from

50 to 99%. The variance analysis showed significant differences among the cultivars regarding the incidences of burned grains and moldy grains. Regarding the fumonisin B<sub>1</sub> production, the cultivars 'Hatã 3052', 'NB 6077' and '983 P' produced 7; 6.1 and 5.9 µg.g<sup>-1</sup> of grains, respectively, with significant difference from the cultivar 'P3071' (2.2 µg.g<sup>-1</sup> of grains). There were significant differences among the corn cultivars with respect to the burned and moldy grains production; as well as interaction among cultivars and the toxigenic fungus *Fusarium subglutinans* (*Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans*) regarding fumonisin B<sub>1</sub> production in corn grains.

Additional Keywords: *Zea mays*, fungi, mycotoxin, grain pathology.

Os grãos ardidos em milho são o reflexo das podridões de espigas, causadas principalmente, pelos fungos presentes no campo, como *Stenocarpella maydis*, *S. macrospora*, *Fusarium verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. graminearum*, *Gibberella zeae*, *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp. Como padrão de qualidade têm-se, em algumas agroindústrias, a tolerância máxima de 6,0 % para grãos ardidos em lotes comerciais de milho (7). Tendo em vista que os grãos de milho

podem estar contaminados com *Fusarium* (*F. moniliforme*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum*, *F. napiforme*, *F. nygamai*), no campo, e que a produção de fumonisina ocorre no estágio de pré-colheita, uma alternativa promissora de controle é o desenvolvimento de híbridos resistentes a esses fungos toxigênicos.

A produção da fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) em grãos de milho, pelo fungo *Fusarium subglutinans*, é relatada por vários autores, entre eles Chulze

**Tabela 1-** Porcentagem de grãos ardidos, da microbiota fúngica dos grãos ardidos e de grãos visualmente mofados, e teores de Fumonisina B<sub>1</sub> na pré-colheita de grãos de milho. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, 1999.

Cultivar	Microbiota dos grãos ardidos (%)		Grãos ardidos (%) <sup>1</sup>	Grãos mofados (%) <sup>1</sup>	Fumonisina B <sub>1</sub> (µg.g <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>
	<i>Fusarium subglutinans</i>	<i>Penicillium oxalicum</i>			
Hatã 3052	87,0	46,0	7,6 a <sup>2</sup>	2,0 bcdef	7,0 a
NB 6077	93,5	30,5	4,2 ab	1,0 bcdefg	6,1 ab
983 P	90,0	38,5	2,1 b	0,3 bcdefg	5,9 ab
MTL 9877	89,0	26,5	3,4 ab	1,4 bcdefg	5,1 abc
Dina 657	94,0	24,5	2,3 b	0,1 fg	5,1 abc
BRS 3060-A	91,0	39,0	1,7 b	0,1 fg	4,9 abc
CX 9856	98,5	24,5	4,7 ab	0,6 bcdefg	4,8 abc
G 186 C	92,0	30,0	2,9 ab	0,9 bcdefg	4,7 abc
SHS 4040	99,0	13,0	3,6 ab	2,2 bcdef	4,6 abc
AS 523	96,0	18,5	1,7 b	0,1 fg	4,4 abc
XL 550	79,5	33,5	1,6 b	1,9 bcdef	4,4 abc
Dina 1000	89,0	30,5	2,2 b	3,2 b	4,3 abc
Z 84 E 10	86,0	41,0	2,1 b	0,0 fg	4,2 abc
MTL 9729	90,0	43,0	2,2 b	0,6 bcdefg	4,1 abc
XL 355	92,0	41,0	2,9 ab	0,6 bcdefg	3,8 abc
CX 9810	64,0	42,0	2,2 b	0,2 bcdefg	3,8 abc
AS 3466	92,0	27,0	3,7 ab	0,3 bcdefg	3,8 abc
P 30F45	78,0	54,0	3,2 ab	0,1 efg	3,7 abc
AG 5016	98,0	23,0	3,2 ab	0,3 efg	3,7 abc
AG 5011	68,0	58,0	5,1 ab	16,8 a	3,7 abc
SHS 5060	88,5	38,0	4,2 ab	2,8 bcde	3,5 abc
XL 357	94,0	28,0	1,9 b	0,2 defg	3,4 abc
X 1286 B	88,5	56,0	3,5 ab <sup>2</sup>	1,2 bcdefg	3,4 abc
CO 34	85,0	42,0	2,9 ab	0,4 bcdefg	3,4 abc
HT 7105-3	88,5	39,0	3,1 ab	3,4 b	3,3 abc
HT 971011	50,0	9,0	1,5 b	0,1 efg	3,3 abc
C 447	94,0	29,0	1,6 b	2,5 bcde	3,3 abc
Z 8392	94,0	35,0	3,6 ab	1,6 bcdefg	3,3 abc
CO 32	85,0	70,5	3,8 ab	0,5 bcdefg	3,3 abc
Z 8486	93,5	34,0	1,2 b	0,0 g	3,2 bc
Agromen 2 E 2	96,0	28,0	1,4 b	0,9 bcdefg	3,0 bc
C 701	85,5	50,0	3,1 ab	3,1 bcd	3,0 bc
CD 3121	91,5	25,5	1,3 b	1,7 bcdefg	2,8 bc
Z 84 E 20	88,5	30,0	2,2 b	0,1 fg	2,7 bc
AG 8014	66,0	86,5	2,5 b	0,0 fg	2,6 bc
P 3071	82,5	38,5	2,9 ab	0,3 bcdefg	2,2 c
C.V. (%)			26,6	29,3	13,4

<sup>1</sup> Estes valores representam os dados originais, os quais para a análise de variância foram transformados por  $\sqrt{X}$ .

<sup>2</sup> Médias seguidas por letras distintas, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

et al. (1). A FB<sub>1</sub> tem sido mencionada como causadora da leucoencefalomalácia em cavalos (6), do edema pulmonar em suínos (2), e está correlacionada com o aumento do risco de câncer de esôfago em seres humanos que consomem milho contaminado (5).

Ono et al. (8) analisaram 113 amostras de milho recém-colhido, provenientes das regiões Centro-Sul e Centro-Oeste do Estado do Paraná. A análise microbiológica demonstrou predominância de colônias com características morfológicas de *Fusarium* spp. Observou-se que as amostras da região Centro-Oeste apresentaram níveis de contaminação fúngica e teores de fumonisinas (FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>) mais elevados em relação às amostras da região Centro-Sul do Paraná, provavelmente devido à diferenças das condições climáticas entre as duas regiões.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de cultivares de milho em relação à produção de grãos ardidos e mofados, na fase de pré-colheita, bem como a biossíntese de fumonisina B<sub>1</sub> pelo fungo toxigênico *Fusarium subglutinans* (*Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans*).

Trinta e seis (36) cultivares de milho foram semeadas em área da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG, e avaliadas quanto à

incidência de grãos ardidos e mofados, bem como produção da fumonisina B<sub>1</sub>. Utilizou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso, com 36 tratamentos e 3 repetições.

Como critérios de avaliação foram utilizadas as seguintes características:

**Percentual de grãos de milho ardidos e mofados** - Amostras de 1,2 kg de grãos das 108 parcelas foram analisados visualmente para a quantificação de grãos ardidos por *Fusarium subglutinans* e mofados por *Penicillium oxalicum*, tendo-se como base de cálculo o número total de grãos da amostra. Foram considerados grãos ardidos todos aqueles que continham pelo menos um quarto de sua superfície com descolorações, cuja matiz variou de marrom-claro á roxo ou vermelho intenso. Para a análise de variância, os dados originais de grãos ardidos e de grãos mofados foram transformados por  $\sqrt{X}$ .

**Microbiota dos grãos ardidos** - Estes foram submetidos à análise de sanidade (400 grãos, em 4 repetições de 100 grãos), empregando-se o método do papel de filtro com congelamento. Visando à identificação

e quantificação dos fungos associados aos grãos ardidos, estes foram examinados, após a incubação, sob microscópio estereoscópico (até 100 aumentos) e microscópio ótico (até 2000 aumentos).

**Deteção de Fumonisina B<sub>1</sub>** - Para a análise de fumonisina B<sub>1</sub>, 108 amostras de 1,20 kg de grãos, foram encaminhadas ao Laboratório de Controle de Qualidade e Segurança Alimentar – LACQSA/MAPA/DFA-MG/LAV-MG, em Belo Horizonte, MG. A metodologia utilizada foi a de cromatografia em camada delgada (10). Esta metodologia fundamenta-se na extração da fumonisina B<sub>1</sub> pela solução metanol: água 80% (v/v), purificação do extrato por cromatografia em coluna de imunoafinidade, eluição com metanol, e deteção e quantificação de fumonisina B<sub>1</sub> por cromatografia em camada delgada por análise visual e densitométrica. Para a análise de variância os dados originais obtidos para fumonisina B<sub>1</sub> foram transformados por .

Na Tabela 1, observa-se que a cultivar Hatã 3052 apresentou 7,6% de grãos ardidos, ultrapassando o limite máximo de tolerância que é de 6,0%. Por outro lado, a análise de variância mostra que, em relação à porcentagem de grãos ardidos, 17 cultivares avaliadas diferiram significativamente da cultivar Hatã 3052, enquanto que 18 cultivares foram semelhantes a cultivar Hatã 3052, apesar de apresentarem valores numericamente inferiores ao limite máximo permitido. Contudo, com vista ao comércio de grãos de milho, estas 35 cultivares apresentam níveis de grãos ardidos adequados para o abastecimento das agroindústrias. As diferenças significativas entre as cultivares em relação às incidências de grãos ardidos, estão de conformidade com os resultados obtidos por Pinto (9).

As cultivares AG 5011, HT 7105-3, Dina 1000 e C 701 apresentaram 16,8%, 3,4%, 3,2% e 3,1% de grãos visualmente mofados por *Penicillium oxalicum*, respectivamente, acima do limite de tolerância que é de 3,0%. Todas as demais cultivares avaliadas apresentaram níveis de grãos visualmente mofados adequados para o abastecimento das agroindústrias, embora tenham ocorrido diferenças significativas entre as cultivares.

Com relação à produção de fumonisina B<sub>1</sub>, observa-se que as cultivares Hatã 3052, NB 6077 e 983 P produziram, em valores reais, 7,0, 6,1 e 5,9 µg.g<sup>-1</sup> de grãos, respectivamente, diferindo significativamente da cultivar P 3071, que apresentou a menor quantidade da micotoxina (2,2 µg.g<sup>-1</sup> de grãos). Por outro lado, o valor máximo de Fumonisin B<sub>1</sub> detectado neste trabalho (Hatã 3052) está acima da tolerância máxima de 1,0 µg.g<sup>-1</sup> de acordo com os padrões internacionais (3), mas abaixo do limite de 8,0 µg.g<sup>-1</sup> citado para o Brasil (7). Estes resultados de deteção diferencial de fumonisina B<sub>1</sub> entre genótipos de milho estão de conformidade com aqueles obtidos por Machinski Junior et al. (4). A análise conjunta dos resultados mostra que as cultivares AG 8014, CD 3121, Z 84 E 20, Z 8486 e Agromen 2 E 2 apresentaram os menores valores de grãos ardidos, de grãos visualmente mofados e de teores de fumonisina B<sub>1</sub>.

Os resultados obtidos neste trabalho permitem inferir que há diferenças significativas entre as cultivares de milho em relação à

produção de grãos ardidos e mofados, e que a produção de fumonisina B<sub>1</sub> é decorrente da interação entre a cultivar e o fungo *Fusarium subglutinans* (*Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans*).

## AGRADECIMENTOS

A Osni Alves da Silva, José Moreira Campos, Ronaldo Geraldo de Souza, Gilberto Ribeiro Rodrigues, Almir Roberto da Silva, Cléber Alves da Cruz e Vilmar Ferreira Martins (funcionários da Embrapa Milho e Sorgo), e ao Laboratório de Controle de Qualidade e Segurança Alimentar – LACQSA/DFA-MG/LAV, pela colaboração na condução deste trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chulze, S.N.; Ramirez, M.L.; Pascale, M.; Visconti, A. Fumonisin production by, and mating populations of, *Fusarium* section *Li-seola* isolates from maize in Argentina. **Mycological Research**, Cambridge, v.102, n.2, p.141-144, 1998.
2. Harrison, L. R.; Colvin, B. M.; Greene, J. T.; Newman, L. E.; Cole, R. J. Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B<sub>1</sub>, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v.2, p.217, 1990.
3. Lazzari, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2 ed. Curitiba: Ed. do Autor, 1997. 148p.
4. Machinski Junior, M.; Soares, L. M. V.; Sawasaki, E.; Sorti, G. D.; Castro, J. L.; Bortoletto, N. Ocorrência de fumonisin B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> em milho plantado no estado de São Paulo. In: Encontro Nacional de Micotoxinas, 9.; Simpósio em Armazenagem Qualitativa de Grãos do Mercosul, 1998, Florianópolis. **Livro de resumos**. Florianópolis: UFSC, 1998. p.114.
5. Marasas, W. F. O. Fumonins: their implications for human and animal health. **Natural Toxins**, New York, v.3, n.4, p.193-198, 1995.
6. Marasas, W. F. O.; Kellerman, T. S.; Gelderblom, W. C. A.; Coetzer, P. G.; Thiel, P. G.; Van Der Lugt, J. J. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B<sub>1</sub> isolated from *Fusarium moniliforme*. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, Pretoria, v.55, p.197, 1988.
7. Menegazzo, R. Micotoxinas em milho para rações na região sul do Brasil (1992 a 1997). In: Scussel, V. M. (Ed.). **Atualidades em micotoxinas e armazenagem de grãos**. Florianópolis: Ed. da Autora, 2000. p.97-103.
8. Ono, E. Y. S.; Ueno, Y.; Hashimoto, E. H.; Fumo, F. Y.; Ono, M. A.; Ono, C. J.; Oda, P.; Hirooka, E. Y. Microbiota fúngica e fumonisin em milho do estado do Paraná. In: Encontro Nacional de Micotoxinas, 9.; Simpósio em Armazenagem Qualitativa de Grãos do Mercosul, 1998, Florianópolis. **Livro de resumos**. Florianópolis: UFSC, 1998. p.121.
9. Pinto, N.F.J.A. Incidência de grãos ardidos em cultivares de milho precoce. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.50, 1999.
10. Preis, R.A.; Vargas, E.A. A method for determining fumonisin B<sub>1</sub> in corn using immunoaffinity column clean-up and thin layer chromatography / densitometry. **Food Additives and Contaminants**, Hants, v.17, n.6, p.463-468, 2000.