

Influência de nutrientes no crescimento fúngico e na produção de fumonisinas e aflatoxinas em grãos de milho

The nutrients effect on mycoflora, and for fumonisins and aflatoxins production in corn grain

RIALA6/1056

Regina H. HASSEGAWA^{1*}, Patrícia ZORZETE², Tatiana A. REIS², Antonio Luiz FANCELLI³, Homero FONSECA³, Adriana P. de ALMEIDA⁴, Benedito CORRÊA²

¹ Departamento da Ciência da Saúde, Centro Universitário Nove de Julho, UNINOVE, Rua Diamantina, 302, Vila Maria, São Paulo, e-mail: rhassegawa@yahoo.com

² Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Microbiologia, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 1374, Cidade Universitária, CEP 05508-900, São Paulo.

³ Departamento da Produção Vegetal, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

⁴ Divisão de Bromatologia e Química, Seção de Química Biológica do Instituto Adolfo Lutz.

Recebido 23/03/2006 – Aceito para publicação 31/05/2006

RESUMO

O presente experimento teve como objetivo correlacionar os resultados obtidos da microbiota fúngica e produção de micotoxinas com os níveis de nitrogênio, zinco e boro utilizados no plantio do milho. Foram realizados tratamentos com quatro concentrações de nitrogênio (0, 50, 100 e 150 kg/ha) de forma interativa com duas concentrações de zinco (0,5 e 1,0 kg/ha), duas concentrações de boro (0,25 e 0,5 kg/ha) e duas concentrações de zinco mais boro (0,5 e 1,0; 0,25 e 0,5 kg/ha respectivamente), perfazendo um total de 25 tratamentos. A média de contaminação das amostras de milho pelos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* foi de 42,7; 38,9 e 41,5% respectivamente, principalmente na faixa de 0,53 a 0,63 de atividade de água. A análise de fumonisinas revelou uma contaminação em 100% das amostras, em níveis que variaram de 1,7 a 27,9 mg/kg para FB₁ e de 0,3 a 11,2 mg/kg para FB₂. Foi detectada aflatoxina B₁ em 7 amostras de milho (16,0 a 1858,3 µg/kg) e B₂ em 3 amostras (14,6 a 110,3 µg/kg). A Análise de Variância demonstrou que o nitrogênio foi positivamente significativo (p<0,05) sobre a porcentagem de contaminação pelo gênero *Fusarium*, enquanto que para o gênero *Aspergillus* foi negativamente significativo (p<0,10).

Palavras-Chave. aflatoxinas, fumonisinas, grãos de milho, nutrientes, microbiota fúngica.

ABSTRACT

The present study aimed to correlate the mycoflora and mycotoxins production with nitrogen, zinc, and boro levels used during the corn grain crop. For the experiment, following treatments were done: use of four doses of nitrogen (0, 50, 100, and 150 kg/ha), two levels of zinc (0.5 and 1.0 kg/ha), two of boro (0.25 and 0.5 kg/ha), and two levels of zinc and boro (0.5 and 1.0, 0.25 and 0.5 kg/ha, respectively). Twenty-five treatments were performed. The corn mycoflora profiles showed that *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* contaminations prevailed in 42.7, 38.9, and 41.5% of samples, respectively. The highest frequencies of isolated fungal were detected mainly at a_w values of 0.53-0.63. Fumonisins analysis indicated a contamination in 100% of corn samples, at concentrations ranging from 1.7 to 27.9 mg/kg for FB₁, and from 0.3 to 11.2 mg/kg for FB₂. Seven corn grain samples were contaminated with aflatoxin B₁ at concentrations ranging from 16.0 to 1,858.3 mg/kg, and three samples were contaminated with aflatoxin B₂ at concentrations that ranged from 14.6 to 110.3 mg/kg. Statistical analysis indicated that the nitrogen did influence on the prevalence of *Fusarium* spp. in corn grains (p<0.05). A significant negative correlation was observed between nitrogen and the genus *Aspergillus* prevalence in corn grains (p<0.10).

Key Words. aflatoxins, fumonisins, corn, nutrients, mycoflora

INTRODUÇÃO

Micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos, que apresentam atividade carcinogênica, mutagênica, teratogênica e estrogênica. Devido a esses efeitos tóxicos, a presença de micotoxinas em alimentos e rações é potencialmente perigosa para saúde humana e animal¹.

As fumonisinas são micotoxinas produzidas, principalmente, pelos fungos *Fusarium verticillioides* e *F. proliferatum*, que se encontram frequentemente no milho e em seus derivados². A fumonisina B₁ (FB₁) é a mais tóxica e a mais encontrada em amostras de milho¹. Com base nas evidências toxicológicas, a Internacional Agency for Research on Cancer - IARC classificou as fumonisinas como pertencentes à Classe 2B, possivelmente carcinogênica a seres humanos, embora ainda não haja evidência suficiente³.

As aflatoxinas são metabólitos secundários fúngicos produzidos, principalmente, por *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*. São conhecidas 17 substâncias do grupo sendo as aflatoxinas B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁) e G₂ (AFG₂) as mais encontradas em alimentos⁴. As aflatoxinas foram classificadas na Classe 1 dos carcinógenos humanos sendo a aflatoxina B₁ a mais tóxica, tendo o fígado como alvo principal³.

O milho é o cereal mais tradicional no Brasil, e também é um excelente substrato para o desenvolvimento de fungos toxigênicos, por isso a utilização de métodos de produção e conservação, contra ataque fúngico é de grande interesse. Além do mais o milho é utilizado intensamente durante todo o ano e sua produção ocorre somente em um restrito período de tempo.

Uma nutrição mineral balanceada com macronutrientes e micronutrientes protege as plantas contra ataques fúngicos, porém aquelas que não tiverem uma nutrição adequada podem desenvolver doenças, aumentando a severidade da enfermidade, conseqüentemente, diminuindo a produtividade e favorecendo a produção de micotoxinas⁵⁻⁷.

O macronutriente mais importante é o nitrogênio, que faz parte de várias moléculas de proteínas, enzimas, coenzimas e ácidos nucléicos⁸⁻⁹. Excesso de nitrogênio nas plantas pode promover um crescimento vegetativo prolongado, onde as folhas ficam mais expostas aos patógenos e a parede celular fica mais fina e vulnerável à penetração de fungos¹⁰.

O zinco é um micronutriente que tem funções metabólicas essenciais à planta. Ele participa como componente de um grande número de enzimas, como as desidrogenases, proteinases, peptidases e fosfotransferases. Além disso, o zinco está relacionado com o metabolismo dos carboidratos, das proteínas, dos fosfatos e na formação da estrutura de auxinas, de RNA e de ribossomos¹¹. Com a deficiência de zinco as plantas ficam mais susceptíveis à várias doenças, muitas de origem fúngica¹². O zinco desempenha papel de destaque na biossíntese de muitos metabólitos secundários, incluindo policetídeos do grupo das aflatoxinas¹³⁻¹⁵. O zinco liga-se ao ácido nucléico, afetando a expressão dos genes de algumas enzimas, envolvidas no metabolismo dos fungos toxigênicos e na síntese das micotoxinas¹⁶.

O boro é um micronutriente essencial para as plantas, pois participa da síntese da parede celular e da integridade das membranas plasmáticas das plantas¹⁷.

O presente experimento teve como objetivo avaliar os efeitos dos nutrientes nitrogênio, zinco e boro, aplicados durante o plantio de milho, na microbiota fúngica e na produção de aflatoxinas e fumonisinas, em amostras de milho recém-colhido.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

O estudo foi conduzido na estação experimental da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ-USP, situada no município de Piracicaba-SP, a 22°43'S, 47°38'W, 580 m de altitude. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, onde foram distribuídas nove sementes por metro linear de sulco, cada parcela experimental foi composta por quatro linhas de 5 m de comprimento, com espaçamento de 0,8 m entre si, perfazendo uma área total de 16 m².

Híbrido de milho

A semente para o plantio foi o híbrido Cargill 909. A semeadura foi realizada em setembro de 1999 e as espigas de milho colhidas em janeiro de 2000. No total foram analisadas 72 amostras de grãos de milho provenientes de diferentes tratamentos com zinco, boro e nitrogênio, quanto à contaminação por fungos, aflatoxinas e fumonisinas.

Tratamentos

Os nutrientes foram aplicados, via foliar, na segunda (4 folhas) e na quarta semana (8 folhas), após a emergência da planta de milho. As fontes de nitrogênio, zinco e boro foram uréia, sulfato de zinco e ácido bórico, respectivamente, onde as quatro doses de nitrogênio (0, 50, 100 e 150) foram aplicadas de forma interativa com zinco (0, 0,5 e 1,0 kg/ha) e boro (0, 0,25 e 0,5 kg/ha). Todos os tratamentos foram realizados em três repetições no campo, com a exceção do tratamento 1. Os 25 tratamentos estão indicados na Tabela 1.

Atividade de água

A atividade de água dos grãos de milho foi determinada utilizando-se o aparelho AQUALAB CX-2 (Decagon Devices Inc., Pullman, Washington).

Contagem, isolamento e identificação da microbiota fúngica dos grãos de milho

A microbiota fúngica dos grãos foi determinada de acordo com o método de Berjak¹⁸. De cada amostra de milho, uma sub-amostra de 33 grãos foi desinfetada superficialmente com hipoclorito de sódio a 2 % por 3 minutos e lavada três vezes com água destilada esterilizada. Onze grãos foram plaqueados em placa de Petri contendo o meio Ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol. As placas foram incubadas a 25

Tabela 1. Níveis de nitrogênio, zinco e boro utilizados no plantio de milho (Tratamentos).

Tratamento	Descriminação	Composição
1	Nitrogênio (0kg/ha)	Zinco (0 kg/ha) + Boro (0kg/ha)
2		Zinco (0,5kg/ha)
3		Zinco (1,0kg/ha)
4		Boro (0,25kg/ha)
5		Boro (0,5kg/ha)
6		Zinco (0,5kg/ha)+Boro (0,25kg/ha)
7		Zinco (1,0kg/ha)+Boro (0,5kg/ha)
8	Nitrogênio (50kg/ha)	Zinco (0,5kg/ha)
9		Zinco (1,0kg/ha)
10		Boro (0,25kg/ha)
11		Boro (0,5kg/ha)
12		Zinco (0,5kg/ha)+Boro (0,25kg/ha)
13		Zinco (1,0kg/ha)+Boro (0,5kg/ha)
14	Nitrogênio (100kg/ha)	Zinco (0,5kg/ha)
15		Zinco (1,0kg/ha)
16		Boro (0,25kg/ha)
17		Boro (0,5kg/ha)
18		Zinco (0,5kg/ha)+Boro (0,25kg/ha)
19		Zinco (1,0kg/ha)+Boro (0,5kg/ha)
20	Nitrogênio (150kg/ha)	Zinco (0,5kg/ha)
21		Zinco (1,0kg/ha)
22		Boro (0,25kg/ha)
23		Boro (0,5kg/ha)
24		Zinco (0,5kg/ha)+Boro (0,25kg/ha)
25		Zinco (1,0kg/ha)+Boro (0,5kg/ha)

°C por 5 dias. As colônias fúngicas foram contadas e identificadas em nível de gênero. Entretanto aqueles pertencentes ao gênero *Fusarium* e *Aspergillus* foram classificados até espécie de acordo com os compêndios Raper & Fennell¹⁹; Arx²⁰; Nelson et al.²¹ e Nelson²².

Análise de Fumonisinas

As amostras de milho foram extraídas de acordo com o método de Sydenham *et al.*²³. Os extratos das amostras foram ressuspensos com 200 µL de acetonitrila:água (1:1), e derivatizados com uma solução de ortoftaldialdeído-OPA (40 mg de OPA, 1 mL metanol, 5 mL tetraborato de sódio 0,1 M e 50 µL 2-mercaptoetanol) por 2 minutos. O produto dessa reação foi analisado no Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência-CLAE, em fase reversa e modo isocrático (Bomba Shimadzu LC-10AD, Detector de fluorescência RF-10AXL). Para separação foi empregada a coluna analítica 5 µm ODS-20 C₁₈ (150x 4,6 mm, Phenomenex - Ultracarb) e como fase móvel, foi utilizado o sistema acetonitrila:água:ácido acético (50:50:1), com vazão de 1,0 mL/min. e temperatura de coluna 24°C. Essa composição de fase móvel permitiu a obtenção de pressão e viscosidade de fase móvel adequadas, com separação e tempo de retenção: t_r FB₁ = 8-10 minutos e t_r FB₂ = 22-24 minutos. O limite de detecção do método foi de 50ng/g, tanto para fumonisina B₁ quanto para fumonisina B₂ e a taxa de recuperação foi de 88% e 94% para FB₁ e FB₂, respectivamente.

Análise de Aflatoxinas

As amostras de milho foram quantificadas de acordo com o método de extração de Soares e Rodriguez-Amaya²⁴. Os extratos das amostras foram ressuspensos em 500 µL de clorofórmio e aplicados em cromatofolha de alumínio (Sílica Gel 60G - Merck). A quantificação foi feita por métodos visuais através da luz ultravioleta (366nm), comparando a intensidade da fluorescência do padrão com as das amostras. O limite de detecção do método foi de 2 µg/kg e a taxa de recuperação foi de 80 %.

Análise estatística

Os dados obtidos de cada característica avaliada foram submetidos a quatro modelos de análise da variância (p<0,05 e p<0,1), com dois fatores, para que o efeito do nitrogênio, zinco e boro sobre a contaminação fúngica e produção de micotoxinas fosse analisado. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa "Statistical Analysis System-SAS" (versão 6.11)²⁵.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade de água

A atividade de água influencia nas interações com os fungos, na habilidade em produzir esporos, nas atividades metabólicas e, principalmente, na produção de micotoxinas²⁶.

A atividade de água dos grãos de milho recém-colhidos variou de 0,53 a 0,63. Os valores de atividade de água encontrados nas amostras analisadas foram baixos para a produção de fumonisinas pelo *Fusarium verticillioides*. Isto sugere que a produção das fumonisinas tenha ocorrido antes da colheita do milho. Cahagnier et al.²⁷ constataram que não há produção de fumonisinas B₁ em atividade de água de 0,85 a 0,86. Marin et al.²⁸ observaram uma maior produção de fumonisinas B₁ em grãos de milho com atividade de água entre 0,95 a 0,96. Almeida et al.²⁹ verificaram que os mais altos níveis de contaminação de fumonisina B₁ em grãos de milho ocorreram em valores de atividade de água que variaram de 0,93 a 0,99.

Microbiota fúngica dos grãos de milho

A contaminação média dos grãos de milho pelos fungos *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp., nos 24 tratamentos, foi de 42,7; 41,5 e 38,9 %, respectivamente. Além desses, também foram encontrados fungos dos gêneros *Trichoderma* (11,02 %), *Nigrospora* (3,0 %), *Cladosporium* (3,34 %), *Rhizopus* (3,0 %), *Cephalosporium* (11,02 %), Fungos Não Esporulados - FNE (18,18 %) e leveduras (24,0 %). O

O fungo *Aspergillus flavus* foi isolado dos grãos de milho de todos os tratamentos, onde a contaminação média, por este fungo, nos tratamentos sem nitrogênio e com nitrogênio 50, 100 e 150 kg/ha foram respectivamente, 37,3 %, 39,4 %, 42,2 % e 21 %. Outras espécies de *Aspergillus* isoladas foram *A. niger*, *A. ochraceus* e *A. terreus*.

Quanto à contaminação dos grãos de milho pelo fungo *Fusarium* spp., a espécie mais freqüente foi o *F. verticillioides*, que aparece numa porcentagem de 30,1 % no milho sem adição de nitrogênio e 39,7 %, para o milho tratado com nitrogênio 50 kg/ha, 41,1 % para o milho tratado com nitrogênio 100 kg/ha e 63,3 % para o milho tratado com 150 kg/ha. Outra espécie, menos freqüente, foi o *F. proliferatum* encontrado nos tratamentos sem adição de nitrogênio e com adição de nitrogênio 50 e 100 nas porcentagem de 3 %, 3 % e 15,1 %, respectivamente.

O efeito do nitrogênio sobre a contaminação dos grãos de milho por *Fusarium* spp. foi positivamente significativo ($p < 0,05$), ou seja o aumento da concentração de nitrogênio proporcionou um aumento da contaminação dos grãos de milho pelo *Fusarium* spp. O nitrogênio pode aumentar a resistência da planta, mas em concentrações elevadas favorece o aparecimento de doenças facilitando a infecção por *Fusarium* spp.³⁰. Duffy e Defago³¹ verificaram que os fertilizantes, utilizados como fonte de nitrogênio, influenciaram na severidade de doenças causadas por *Fusarium* spp. Celar³² estudou a competição por nitrogênio entre fungos fitopatogênicos (*F. solani*, *F. sambucinum* e *F. verticillioide*) e antagonístico (*Trichoderma* spp.), verificou que os fungos do gênero *Fusarium* utilizaram nitrito mais rapidamente, como também duas fontes de nitrogênio simultaneamente do que os fungos antagonísticos. Portanto *Fusarium* spp. é um bom competidor pelo nutriente nitrogênio favorecendo no seu

desenvolvimento. Sarathchandra et al.³³ também verificaram que com o aumento de nitrogênio no solo aumentava a contaminação da planta por *Fusarium* spp.

Ao contrário do *Fusarium* spp. a contaminação dos grãos de milho pelo gênero *Aspergillus* diminuiu quando aumentou a concentração de nitrogênio. Este fato pode ser devido ao aumento da contaminação dos grãos de milho pelo *Fusarium* spp. inibindo, assim, o fungo *Aspergillus* spp. Marin et al.²⁸ observaram que em condições favoráveis para o crescimento do gênero *Fusarium* houve inibição do crescimento de *Aspergillus* spp.

O zinco e o boro não tiveram um efeito significativo sobre o crescimento de *Fusarium* spp. porém, observamos que o zinco na concentração 0,5 kg/ha foi mais favorável a contaminação fúngica dos grãos do que o zinco na concentração de 1,0 kg/ha. A deficiência de zinco na planta causa perda da integridade da membrana, aumentando a sua permeabilidade e favorecendo a infecção pelos fungos³⁴. Zubaidi et al.³⁵ observaram que a alta concentração de zinco no cultivo de trigo aumentou a resistência da planta contra a colonização pelo *F. graminearum*. Cuero¹⁶ verificou que solo contendo zinco quelado, inibiu o crescimento de *F. verticillioides*.

Nos tratamentos N(50), N(100) e N(150) combinados com B(0,25) os grãos de milho foram menos contaminados por *Fusarium* spp. quando comparados com B(0,5). Guerra e Anderson³⁶ observaram que a deficiência de boro resulta em um aumento da contaminação do feijoeiro por *F. solani*. O boro aplicado em concentrações elevadas pode causar toxidez e a sua deficiência pode causar inibição do crescimento da planta, morte da gema apical, necrose, menor produção de sementes e além disso, liberar sacarose e aminoácidos que são nutrientes para pragas e patógenos de planta, favorecendo a contaminação⁹.

A Figura 1 mostra a freqüência relativa (%) de fungos isolados de grãos de milho cultivados em diferentes concentrações de nitrogênio, zinco e boro.

Concentração de Fumonisinas B₁ e B₂ nos grão de milho

A análise de 72 amostras de grãos de milho coletadas em diferentes tipos de tratamento revelou uma contaminação com fumonisinas em 100 % das amostras em níveis que variaram de 1,7 a 27,9 mg/kg (FB₁) e de 0,3 a 11,2 mg/kg (FB₂). Nos tratamentos controles sem nitrogênio, zinco e boro os níveis de fumonisina B₁ e B₂ foram de 11,5 e 2,5 mg/kg, respectivamente (Figura 2).

O macronutriente nitrogênio, além de ter influenciado na contaminação fúngica por *Fusarium* spp., também teve efeito significativo sobre a produção de fumonisina B₁.

Os dados do presente trabalho revelaram que nos tratamentos N(50) combinado com boro (0,25) e N(50) combinado com zinco (0,5) e boro (0,25), foram encontrados uma maior concentração das fumonisinas B₁ e B₂ nos grãos de milho do que nos tratamentos N(100), concentração esta normalmente utilizada na adubação de milho no Brasil. Anderson et al.³⁷, verificaram que a insuficiência de nitrogênio em plantas fertilizadas aumentou duas vezes mais a produção

de toxinas em relação às plantas fertilizadas com concentração ótima de nitrogênio. O zinco e o boro não foram estatisticamente significativos ($p > 0,05$) para a produção de fumonisinas.

Mesmo tendo uma maior contaminação por *Fusarium* spp. nos tratamentos N(0), N(50) e N(100) combinados com B(0,5), a produção de fumonisinas B₁ e B₂ quando comparada com o tratamento B(0,25) foi bem menor. Uma explicação para este fato pode ser a baixa produção de fumonisinas pelas cepas de *Fusarium verticillioides*.

Concentração de Aflatoxinas B₁ e B₂ nos grãos de milho

A aflatoxina B₁ foi detectada em 7 (9,7 %) amostras de grãos de milho com níveis que variaram de 16,0 a 1858,3 µg/kg e aflatoxina B₂ em 3 (4,2 %) amostras com níveis que variaram de 14,6 a 110,3 µg/kg. A maior produção de aflatoxina B₁ foi encontrada no tratamento N(0) combinado com Zn(1,0) numa concentração de 1858,3 µg/kg (AFB₁) e 110,3 µg/kg (AFB₂), seguido do tratamento N(50) B(0,5) com 484,6 µg/kg (AFB₁) e 22 µg/kg (AFB₂), no tratamento N(50) Zn (0,5) apresentou 161,6 µg/kg (AFB₁) e 14,6 µg/kg (AFB₂), nos tratamentos N(100) Zn (0,5), N(150) Zn(1,0) e N(150) Zn (0,5) B (0,25) apresentaram 194 µg/kg (AFB₁) e a menor produção foi no tratamento N(100) Zn(0,5)B(0,25) com 16 µg/kg (AFB₁). Jones e Ducan³⁸ verificaram que em milho plantado com baixas concentrações de nitrogênio houve maior produção de aflatoxina B₁.

Bassir e Adekunle³⁹; Obidoa e Nudubuisi⁴⁰ não encontraram correlação entre produção de aflatoxinas e conteúdo de zinco, porém Cuero e Oullet⁴¹ constataram que o zinco é importante na produção de aflatoxinas e pouco efeito no crescimento de *A. flavus*. Failla et al.¹³ verificaram uma correlação positiva entre zinco e concentração de aflatoxinas no milho, produzidos por *A. flavus* e *A. parasiticus*. O zinco não só é importante para a produção de aflatoxinas, mas também na produção de fusarina C. Neste trabalho foi observado que os grãos de milho tratados com N(0) e N(50) e N(100) combinados com Zn(0,5) continham 7,6 µg/kg, 9,0 µg/kg, e 22,2 µg/kg (AFB₁), respectivamente e para AFB₂ 1,3 µg/kg, 1,7 µg/kg e 7,7 µg/kg, respectivamente, concentrações maiores do que os combinados com Zn(1,0) 5,1 µg/kg, 3,9 µg/kg, 11,4 µg/kg para AFB₁ e para AFB₂ 0,7 µg/kg, 0,7 µg/kg e 2,1 µg/kg, respectivamente. Jackson et al.¹⁴ constataram que a deficiência de zinco no meio promove um aumento da fusarina C, outra micotoxina produzida pela espécie *F. verticillioides*.

CONCLUSÕES

O presente trabalho demonstrou que a concentração de nitrogênio influenciou positivamente na contaminação pelo *Fusarium* spp. e negativamente na contaminação pelo *Aspergillus* spp. O nitrogênio foi significativo na produção de fumonisinas B₁ e B₂.

O zinco e boro não obtiveram efeito significativo sobre o crescimento de *Fusarium* spp. e *Aspergillus* spp., como

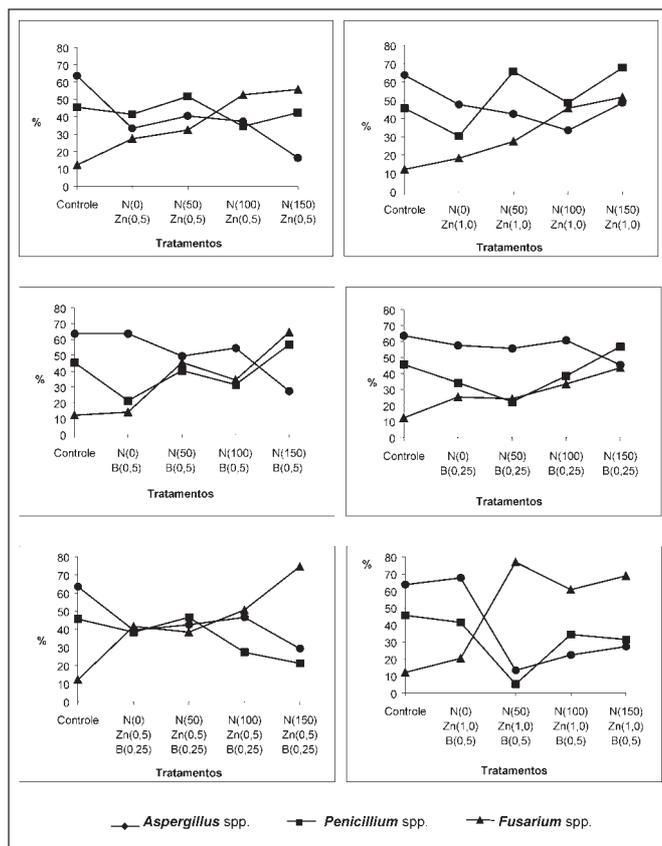


Figura 1. Frequências relativas (%) de fungos isolados de milho cultivado em diferentes concentrações de nitrogênio, zinco e boro.

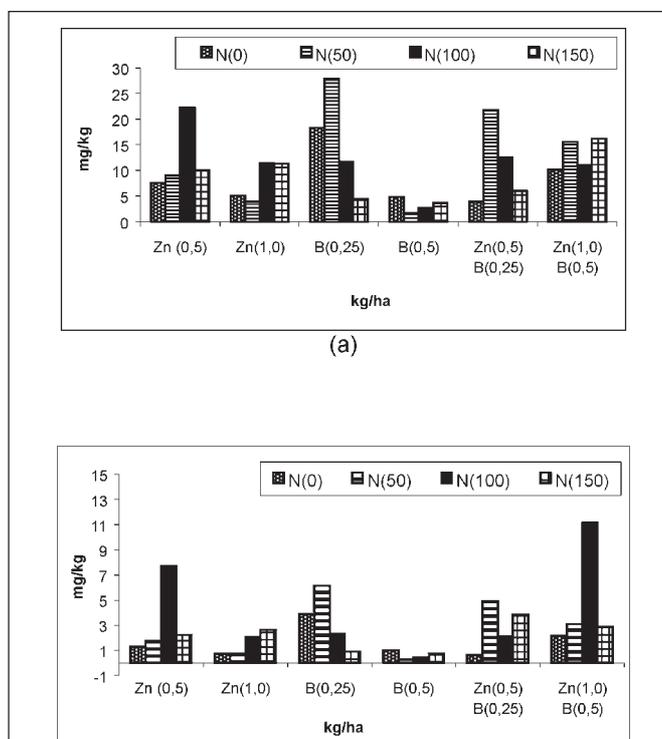


Figura 2. Incidência de (a) fumonisinas B₁ e B₂ e (b) fumonisina B em 72 amostras de milho cultivadas em diferentes concentrações de nitrogênio, zinco e boro.

também na produção de fumonisinas e aflatoxinas.

The influence of nutrients on mycoflora and fumonisins / aflatoxins production in corn grain

REFERÊNCIAS

1. Pittet A. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds – an updated review. *Revue Méd Vét* 1998; 149:479-92.
2. Gelderblom WCA et al. Fumonisin: novel mycotoxin with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol* 1988; 54: 1806-11.
3. International Agency on Research on Cancer [IARC]. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon: IARC, 1993. v.56.
4. Diener UL, Cole RJ, Sanders TH, Payne GA, Lee LS, Klich MA. Epidemiology of aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. *Ann Rev Phytopathol* 1987; 25: 249-70.
5. Stack RW, Horst RK, Langhans RW. Effects of nitrogen and potassium fertilization on infection of florists carnation by *Gibberella zeae*. *Plant Disease* 1986; 70:29-31.
6. Amézquita MO, Barrera AC, Arbeláez G, Granada EG, Ospira J. Evaluación dos sistemas de desinfección del suelo y su interacción con algunas formulaciones de microelementos sobre la incidencia de *Fusarium oxysporium* en dos variedades de clavel. *Agronomía Colombiana*, 1993;10: 122-7.
7. Cuero RG, Osuji G, Washington A. N-carboxymethylchitosan inhibition of aflatoxin production: role of zinc. *Biotechnol Letters* 1991; 13: 441-4.
8. Büll LT. Nutrição Mineral do Milho. In: Cultura do Milho. Simpósio sobre fatores que afetam a produtividade do milho e sorgo. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1990: 63-145.
9. Miller R, Donahue R. Potassium, sulfur, and micronutrients. In *Soils: An introduction to soils and plant growth* 6th ed. New Jersey: Prentice-Hall International Inc.; 1990. p.281-307.
10. Reid LM, Zhu X, Ma BL. Crop rotation and nitrogen effects on maize susceptibility to Gibberella (*Fusarium graminearum*) ear rot. *Plant and soil* 2001; 237: 1-14.
11. Borkert CM. Micronutrientes na planta. In: Bull LT, Rosolem CA editores. Interpretação de análise química do solo e planta para fins de adubação. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas Florestais; 1989: p.309-29.
12. Graham RD. Effects of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements. *Adv Bot Research* 1983; 10:221-76.
13. Failla LJ, Lynn D, Niehaus GJ. Correlation of Zn²⁺ content with aflatoxin content of corn. *Appl Environ Microbiol* 1989; 52:73-4.
14. Jackson MA, Slininger PJ, Bothast RJ. Effects of zinc, iron, cobalt and manganese on *Fusarium moniliforme* NRRL 13616 growth and fusarin C biosynthesis in submerged cultures. *Appl Environ Microbiol* 1989; 55: 649-55.
15. Griffin DH. *Fungal Physiology*. New York: Wiley Interscience Publication; 1993.
16. Cuero RG. Regulation of mycotoxins formation and fungal growth by metal ions and fertilizer: Effect on fungal gene expression. In: Koe WJ. editor. *Mycotoxins and Phycotoxins in perspective at the turn of the millennium*. Guarujá, 2000. p. 355-361.
17. Yamada T. Boro: será que estamos aplicando a dose suficiente para o adequado desenvolvimento das plantas? *Informações Agronômicas - POTAFOS* 2000; 90:1-5.
18. Berjak P. Report of seed committee working group on the effects of storage fungi on seed viability. *Seed Sci Technol* 1984; 12: 233-53.
19. Raper KB, Fennell DI. *The genus Aspergillus*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1965.
20. ARX JA von. *The genera of fungi sporulating in pure culture*. Vaduz: J. Cramer; 1974.
21. Nelson PE, Touson TA, Marasas WFO. *Fusarium species. An illustrated manual for identification*. Pennsylvania: University Press; 1983.
22. Nelson PE. Taxonomy and biology of *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia* 1992; 117:29-36.
23. Sydenham EW, Shephard GS, Thiel PG, Snijman PW, Stockenstrom S. Liquid chromatographic determination of fumonisin B1, B2 and B3 in corn: AOAC-IUPAC collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem Int* 1996; 79: 688-96.
24. Soares LMV, Rodriguez-Amaya DB. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin layer chromatographic method. *J Assoc Off Anal Chem* 1989; 72: 22-6.
25. Draper NR, Smith H. *Applied regression analysis*. New York: John Wiley; 1981.
26. Lacey J. Water availability and the occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in stored products. In: International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, 6. Anais Tokyo, 1988:186-89.
27. Cahagnier B, Melcion D, Richard-Molard D. Growth of *Fusarium moniliforme* and its biosynthesis of fumonisin B1 on maize grain as a function of different water activities. *Lett Appl Microbiol* 1995; 20: 247-51.
28. Marin S, Sanchis V, Arnau F, Ramos AJ, Magan N. Colonisation and competitiveness of *Aspergillus* and *Penicillium* species on maize in the presence of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. *Int J Food Microbiol* 1998; 45: 107-17.
29. Almeida AP, Corrêa B, Direito GM, Fonseca H, Fancelli AL, Ortega E. Mycoflora and fumonisin contamination in Brazilian corn from sowing to harvest. *J Agric Food Chem* 2002; 50:3877-82.
30. Miller JD. Epidemiology of *Fusarium* ear diseases of cereals. In: Miler JD, Trenholm HL editores. *Mycotoxins in grain*. St Paul: Eagan Press; 1994. p.19-36.
31. Duffy BK, Defago G. Trace mineral amendments in agriculture for optimizing the biocontrol activity of plant associated bacteria. In: Berthelin, Huang PM, Bollag JB, Andreaux F editores. *Effect of mineral-organic microorganism interaction on soil and freshwater environments*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 1999. p.295-304.
32. Celar, F. Competition for ammonium and nitrate forms of nitrogen between some phytopathogenic and antagonistic soil fungi. *Biological Control* 2003, 1-6
33. Sarathachandra U, Ghani A, Waller, J Burch, G Sayer S, Waipara N, Dexter M. Impact of carbon-rich dairy factory effluent on growth of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and soil microorganisms. *European Journal of Soil Biology* 2006, 42:13-22.
34. Thompson JE, Legge R, Baber RL. The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytol* 1987; 105:317-44.
35. Zubaidi A, McDonald GK, Hollamby GJ. Nutrient uptake and distribution by bread and durum wheat under drought conditions in South Australia. *Australian J Experim Agriculture* 1999; 39:721-32.
36. Guerra D, Anderson AJ. The effect of iron and boron amendments on infection of bean by *Fusarium solani*. *Physiol Biochem* 1985; 75:989-91.
37. Anderson HW, Nehring EW, Wichser WR. Aflatoxin contamination of corn in the field. *J Agric Food Chem* 1975; 23:775-82.
38. Jones RK, Duncan HE. Effect of nitrogen fertilizer, planting date, and harvest date on aflatoxin production in corn inoculated with *Aspergillus flavus*. *Plant Disease* 1981; 65: 741-4.
39. Bassir O, Adekunle AA. Production of aflatoxin B1 from defined natural cultures of *Aspergillus flavus* (Link). *Mycopathol Mycol Appl* 1972; 46:421-6.
40. Obidoa O, Nduhuisi IE. The role of zinc in the aflatoxigenic potential of *Aspergillus flavus* NRRC 3251 on foodstuffs. *Mycopathol* 1981; 74:3-6.
41. Cuero R, Ouellet T. Metal ions modulate gene expression and accumulation of the mycotoxins aflatoxin and zearalenone. *J Appl Microbiol* 2005; 98:598-605.