

Qualidade sanitária das sementes de híbridos de milho tratadas com nanopartículas de cobre

Sanitary quality of maize hybrid seeds treated with copper nanoparcules

DOI:10.34117/bjdv7n4-607

Recebimento dos originais: 08/03/2021

Aceitação para publicação: 27/04/2021

Liziane Cássia Carlesso

Doutora em Engenharia de alimentos. Universidade Comunitária da Região do Chapecó - Unochapeco, Área Ciências da Saúde, Chapecó- Santa Catarina, Brasil
E-mail: liziane-cc@unochapeco.edu.br

Cristiano Reschke Lajus

Doutor em agronomia. Universidade Comunitária da Região do Chapecó - Unochapeco - Unochapeco, Programa de Pós-Graduação em Gestão de Tecnologia e Inovação, Chapeco- Santa Catarina, Brasil
E-mail: clajus@unochapeco.edu.br

Juliana Steffens

Doutora em Engenharia de alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões -URI, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Erechim - Rio Grande do Sul, Brasil
E-mail:julisteffens@uricer.edu.br

Clarice Steffens

Doutora em engenharia de alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões -URI, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Erechim - Rio Grande do Sul, Brasil
E-mail: clarices@uricer.edu.br

RESUMO

O milho é uma cultura suscetível ao ataque e desenvolvimento de fungos, entre eles aqueles que acometem o grão tanto antes quanto após a colheita. A utilização de cobre como fungicida na agricultura tem sido documentada há mais de um século. O objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos sanitários e microbiológicos em híbridos de milho submetidos ao tratamento de sementes (TS) com nanopartículas de Cu. Analisou-se 5 tipos de híbridos de semente milho (citar quais) tratados com nanopartículas de Cu na dose de 900 mg.L⁻¹ em relação à inspeção visual(grãos avariados) para separação de categorias e detecção dos fungos. Os híbridos HB 05: 20A20 TOP2[®] e HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] destacam-se por apresentar menor porcentagem 4,06% e 5,55%, respectivamente, quanto grãos avariados, quebrados, com matérias estranhas e impurezas. O híbrido HB 03: 20A80 TOP2[®] apresentou maior quantidade (10,08%) de grãos sintomáticos. Os menores valores de FBtotal foram de 1,18 e 1,55 µg/kg nos HB 05

(20A20 TOP2[®]) e HB 02 (20A30 VIPTERA3[®]), respectivamente e o híbrido HB 01 (HB 01: 22S18 TOP2[®]) foi o que apresentou maior valor (4,09 µg/kg), estando de acordo com a legislação.

Palavras chave: Híbridos de milho, nanopartículas de cobre, qualidade sanitária.

ABSTRACT

Corn is a crop susceptible to attack and development of fungi, including those that affect the grain both before and after harvest. The use of copper as a fungicide in agriculture has been documented for more than a century. The objective of this work was to evaluate the sanitary and microbiological aspects in corn hybrids submitted to seed treatment (TS) with Cu nanoparticles. We analyzed 5 types of corn seed hybrids (mention which ones) treated with Cu nanoparticles at a dose of 900 mg.L⁻¹ in relation to visual inspection (damaged grains) to separate categories and detect fungi. The hybrids HB 05: 20A20 TOP2[®] and HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] stand out for presenting a lower percentage of 4.06% and 5.55%, respectively, in terms of damaged, broken grains, with foreign matter and impurities. The hybrid HB 03: 20A80 TOP2[®] showed the highest amount (10.08%) of symptomatic grains. The lowest FB_{total} values were 1.18 and 1.55 µg / kg in HB 05 (20A20 TOP2[®]) and HB 02 (20A30 VIPTERA3[®]), respectively and the hybrid HB 01 (HB 01: 22S18 TOP2[®]) was the which presented the highest value (4.09 µg / kg), being in accordance with the legislation.

Keywords: Corn hybrids, copper nanoparticles, sanitary quality

1 INTRODUÇÃO

A contaminação de alimentos por fungos produtores de micotoxinas pode ocorrer no campo, nas diversas fases de produção, durante o processamento dos produtos e no armazenamento (KUIPER-GOODMAN, 2004). A toxicidade das micotoxinas está relacionada principalmente às propriedades genotóxicas, carcinogênicas, imunotóxicas e nefrotóxicas (BRERA *et al.*, 2008).

A realização de estudos mais completos com relação à contaminação de cereais é de extrema importância, pois além de ser uma ferramenta de vigilância sanitária (verificação da adequação dos níveis de contaminação à legislação vigente), informações já solicitadas por comitês internacionais (FAO, 2011).

Para Jandrey (2014), as sementes de milho híbrido carregam um dos mais modernos pacotes tecnológicos da agricultura moderna. Isso tem provocado investimentos cada vez maiores em qualidade e proteção, pois com a introdução de eventos que incorporam características como resistência a doenças, insetos e herbicidas, ocorreu um aumento do custo inicial de implantação da lavoura, aumentando o valor

agregado da semente. Além das tecnologias, o melhoramento genético tem propiciado materiais adaptados aos mais diferentes ambientes.

Na busca pela elevação dos níveis atuais de rendimento e redução nos custos de produção do milho no Brasil, novas tecnologias vêm sendo incorporadas aos sistemas de produção. Dentre essas, destaca-se a utilização de nanopartículas de nutrientes aplicadas via tratamento de sementes (TS), a qual é considerada uma estratégia agrônômica promissora, pois garante o sucesso no estabelecimento da respectiva cultura, possibilitando às plantas maior capacidade em resistir aos estresses bióticos (ocasionados por pragas e doenças) ou abióticos (em função das condições ambientais e nutrição) durante as fases de definição dos componentes de rendimento. A nanotecnologia envolve muitas pesquisas, está em expansão e envolve muitas linhas de aperfeiçoamento tanto da indústria como de outros setores e aplicações. No campo científico estão sendo reconhecidas como forte potencial de várias aplicações e produtos. Especificamente as nanopartículas de óxido de cobre possuem maior capacidade de promover alterações metabólicas nas células, indicando a dependência do tamanho da nanopartícula no seu desempenho como material que destrói micróbios ou mesmo impedem seu desenvolvimento, o óxido de cobre possui maiores níveis de citotoxicidade quando comparadas com nanopartículas de outros óxidos metálicos, como o óxido de ferro, dióxido de titânio e óxido de zinco (MARTINS *et al.*, 2012).

Indiscutivelmente, a nanotecnologia apresenta um largo espectro de oportunidades e possibilidades, embora seja amplamente empregada em diversas áreas do conhecimento, ainda é pouca utilizada em estudos agrônômicos, nutricionais e de tecnologia de alimentos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos sanitários e microbiológicos em híbridos de milho submetidos ao TS com nanopartículas de Cu.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os híbridos de milho utilizados neste estudo foram: H1: 22S18 TOP2[®]; H2: 20A30 VIPTERA[®]; H3: 20A80 TOP2[®]; H4: 22S18 TOP3[®] e H5: 20A20 TOP2[®]. Estas sementes foram tratadas com 900 mg.L⁻¹ nanopartículas de Cu, com base em estudo prévio obtido por Carlesso *et al.* (2020), onde com esta dose o milho apresentou melhor qualidade fisiológica.

Os grãos foram avaliados em armazenamento sob condições de umidade e temperatura controlada.

Para avaliar a qualidade sanitária, as amostras de grãos de milho foram quarteadas em 250 g, sendo os grãos submetidos à inspeção visual para separação de categorias. A incidência dos grãos avariados foi determinada conforme critério estabelecido na Instrução Normativa Ministério da Agricultura Pecuária e abastecimento n° 60/2011(MAPA, 2011), como demonstra a Tabela 1.

Tabela 1 – Limites máximos de tolerância de incidência dos grãos avariados de acordo com a Instrução Normativa n° 60/2011 (MAPA, 2011)

Enquadramento	Grãos avariados		Grãos quebrados	Matérias estranhas e impurezas	e Carunchados
	Ardidos -----(%)-	Total -----(%)-	-----(%)-		
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 do tipo	5,00	20,00	> 5,00	> 2,00	8,00

Fonte: MAPA (2011).

Em cada amostra foi realizada a separação manual dos grãos sintomáticos (ardidos, fermentados e mofados) dos grãos sadios. Os grãos sintomáticos foram pesados e o peso obtido transformado em incidência de grãos avariados. Os grãos ardidos têm definição de grãos ou pedaços de grãos que apresentam escurecimento total, causado por calor, umidade ou fermentação avançada. Para os fermentados, consiste em grãos ou pedaços de grãos que apresentam escurecimento parcial do germe ou endosperma causado por calor ou processo fermentativo. Para os mofados, são grãos ou pedaços de grãos que apresentam contaminação fúngica visível a olho nu ou coloração esverdeada/azulada no germe (MAPA, 2011).

A detecção dos fungos foi realizada de acordo com Ribeiro *et al.* (2013). As micotoxinas (Aflatoxinas totais e fumonisina) foram determinadas nos grãos dos híbridos tratados com 900 mg.L⁻¹ nanopartículas de Cu.

Os dados coletados foram submetidos à análise estatística descritiva, conforme Piana, Machado e Selau (2009); tais dados foram interpretados por intermédio da elaboração de gráficos e de tabelas com base nas Normas de Apresentação Tabular do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (1993).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 GRÃOS AVARIADOS, QUEBRADOS, COM MATÉRIAS ESTRANHAS E IMPUREZA

Conforme a separação manual dos grãos sintomáticos (ardidos, fermentados e mofados) dos grãos sadios (MAPA, 2011) foi possível categorizar os híbridos de milho submetidos ao TS na dose de 900 mg.L⁻¹ de nanopartículas de Cu (Tabela 2).

Tabela 2 – Enquadramento dos híbridos submetidos ao TS com 900 mg.L⁻¹ de nanopartículas de Cu

Híbridos	Grãos avariados	Grãos quebrados	Matérias estranhas/impurezas	Carunchados	Tipo
	------(%)-----				
HB 05: 20A20 TOP2 [®]	4,06	0,36	0,19	0,00	1
HB 02: 20A30 VIPTERA3 [®]	5,55	0,24	0,13	0,00	1
HB 04: 22S18 TOP3 [®]	6,07	0,28	0,18	0,00	2
HB 01: 22S18 TOP2 [®]	8,74	0,28	0,17	0,00	2
HB 03: 20A80 TOP2 [®]	10,08	0,49	0,30	0,00	3

Fonte: elaborada pela autora.

A partir dos dados obtidos dos diferentes híbridos observou-se que a qualidade sanitária (danos de grãos/impurezas/carunchados) apresentaram variações. Os híbridos HB 05: 20A20 TOP2[®] e HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] destacam-se positivamente, pois apresentam menores porcentagens (4,06% e 5,55%) quanto aos grãos avariados. No entanto, o híbrido HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] se destacou por apresentar menor percentual de grãos quebrados, com matérias estranhas e impurezas. Relaciona-se tal resultado pelas espigas dos híbridos serem completamente empalhadas, com palhas mais alongadas e unidas na ponta, protegendo completamente o terço superior da espiga.

Em contrapartida, o híbrido HB 03: 20A80 TOP2[®] apresentou o pior empalhamento (VERDI, 2020), correlacionando-se assim a elevada percentagem (10,08%) de grãos sintomáticos. Deve-se ressaltar que, ambos híbridos HB 05: 20A20 TOP2[®] e HB 02: 20A30 VIPTERA3[®] apresentam nas suas características morfológicas o quesito empalhamento bom e excelente. Logo este fator, representa um caráter importante para reduzir as perdas no milho. Fonseca (2005) afirma que, o bom empalhamento da espiga, que ocorre quando as brácteas que a revestem cobrem completamente a extremidade da inflorescência feminina, impede que os grãos da ponta da espiga fiquem expostos a condições ambientais desfavoráveis, principalmente acúmulo de umidade. Segundo Costa *et al.* (2012), em trabalho realizado avaliando 13 linhagens elite na

Embrapa Milho e Sorgo, estas diferenças foram relacionadas à algumas características de espiga, como o nível de empalhamento e a decumbência.

Os híbridos que possuem espigas mal empalhadas, com palhas frouxas e não totalmente cobertas, são mais predispostos a infecção por fungos, devido ao maior acesso desses organismos aos grãos. Espigas mal empalhadas podem favorecer a maior incidência de grãos ardidos, conforme reportado por Costa *et al.* (2012). Desta forma, a presença de espigas bem empalhadas e decumbentes após a maturação fisiológica pode ser uma ferramenta importante para diminuir a ocorrência de fungos que infectam as espigas.

Quanto aos tipos de grãos contra as alterações nos híbridos, a maioria dos grãos foram classificados como tipo 1 e 2 (Tabela 2). O Tipo 2 é classificado de acordo com a quantidade de grãos e danos fermentados. O foco principal da análise de grãos danificados foi correlacioná-las com os resultados do estudo em curso sobre fungos (isolados). Além disso, para correlacionar a sua qualidade através da observação da presença de organismos vivos (insetos/fungos) e de grãos alterados (fungos e bactérias de fermentação). De acordo com a norma vigente que estabelece o Regulamento Técnico do milho, da Instrução Normativa nº 60/2011(MAPA, 2011), em relação à percentagem de grãos ardidos toleráveis, os grãos oriundos do experimento apresentaram > 2% de ardidos, o que acarretaria em uma desclassificação do produto, sendo designado como grãos Fora de Tipo, sendo que os mesmos poderão ser comercializados como se apresenta, desde que identificado como Fora de Tipo, ou poderá ser beneficiado novamente, desdobrado ou recomposto para efeito de enquadramento em tipo.

Assim, a interferência das nanopartículas de Cu na categorização dos grãos ardidos e sadios conforme a Tabela 2, também deve ser levada em consideração. Na planta, o cobre está presente em várias proteínas e participa de inúmeras enzimas, atuando, devido à esta participação, em praticamente todas as vias metabólicas do vegetal, especialmente no metabolismo de carboidratos, do nitrogênio e na síntese de lignina (BROADLEY *et al.*, 2012). A dose 900 mg.L⁻¹ de nanopartículas de Cu aplicada neste estudo, pode ter contribuído como um fator nutricional e protetivo quanto a metabolização e recuperação de nutrientes escassos. A mobilidade do Cu depende do seu teor no tecido. Em plantas bem nutridas, transloca-se com facilidade até os grãos, enquanto nas deficientes tal movimento é mais difícil. De um modo geral, os órgãos mais novos são os primeiros a apresentar sintomas de deficiência de Cu (MARSCHNER, 2012). Segundo Tisdale *et al.* (1993), tanto a aplicação de Cu via solo ou via foliar são

efetivas, porém, é mais comum a aplicação via solo, com quantidades que variam de 0,67 a 22 kg de Cu/ha. No estudo de plantas submetidas ao tratamento com nanopartículas de prata sugere que as nanopartículas foram capazes de penetrar as sementes e de se translocar até as folhas das plantas de soja.

No estudo com plantas de abóbora, cultivadas em um meio aquoso contendo nanopartículas de óxido de ferro, Zhu *et al.* (2008) provaram que as plantas foram capazes de absorver, translocar e acumular as nanopartículas nos tecidos vegetais. Cerca de 0,6 % das nanopartículas fornecidas foram acumuladas nas folhas e 45,4 % destas foram detectadas nas raízes.

3.2 UNIDADE FORMADORA DE COLÔNIAS (UFC), ISOLAMENTO DE FUNGOS GÊNEROS E IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES

Na Tabela 3 são apresentadas as contagens de fungos *Aspergillus fumigatus* e outros gêneros, e detecção de micotoxinas (*aflatoxinas totais* e *fumonisina*) nos híbridos de milho submetidos ao TS na dose de 900 mg.L⁻¹ de nanopartículas de Cu.

No que diz respeito à carga fúngica, os 5 híbridos apresentaram crescimento, nas condições ótimas (25 °C), permitindo quantificar a extensão da carga de fungos do milho, o mínimo detectado foi de 1.0 x 10¹ e o máximo de 8,4 x 10⁴ UFC.g⁻¹. Percebe-se que o HB 05 (20A20 TOP2[®]) apresentou o menor crescimento fúngico (contagem de outros fungos) em relação aos demais híbridos. Estes resultados podem estar relacionados aos indicadores de rendimentos, doenças sintomáticas foliares e radiculares, demonstrando os HB 05 (20A20 TOP2[®]) e HB 02 (20A30 VIPTERA3[®]) serem os mais resistentes e produtivos (VERDI,2020).

No Brasil, a legislação não prevê limites máximos toleráveis (LMT) para fungos para grão de milho seco, apenas para a farinha de milho, <1x 10³ UFC/g.

Tabela 3 – Contagem de *Aspergillus fumigatus* e detecção de micotoxinas (*aflatoxinas totais* e *fumonisina*) dos híbridos tratados com 900 mg.L⁻¹ de nanopartículas de Cu

Híbridos selecionados com 900 mg de nanopartículas de Cu.L ⁻¹	Contagem de <i>Aspergillus fumigatus</i> (UFC/g)	Contagem de outros fungos	Detecção de micotoxinas	
			<i>Aflatoxinas totais</i> (µg/Kg (ppb))	<i>Fumonisina</i> (mg/Kg (ppm))
HB 05: 20A20 TOP2 [®]	1,0 x 10 ¹	2,1 x 10 ⁴	6,5	1,18
HB 02: 20A30 VIPTERA3 [®]	1,0 x 10 ¹	5,2 x 10 ³	6,4	1,55
HB 04: 22S18 TOP3 [®]	1,0 x 10 ¹	6,8 x 10 ⁴	5,0	1,35
HB 01: 22S18 TOP2 [®]	1,0 x 10 ¹	5,0 x 10 ³	<4	4,09
HB 03: 20A80 TOP2 [®]	1,0 x 10 ¹	8,4 x 10 ⁴	7,2	1,94

Fonte: Mercolab (2019).

Esse cereal pode estar sujeito à contaminação por uma microbiota fúngica diversa durante a formação dos grãos, na colheita, no transporte e no armazenamento, com redução da qualidade sanitária, física e nutricional dos grãos e seus derivados e perdas do produto. Várias espécies desses fungos, em condições favoráveis, podem produzir metabólitos tóxicos, as micotoxinas, ocasionando problemas de saúde pública e animal (CRUZ, 2010).

Em relação aos níveis de Fumonisina (FB₁, FB₂ e FB₃) o total de FBs (FB_{total}) detectados nos híbridos pesquisados, todas as amostras apresentaram contaminação por ambas as toxinas. No entanto, nenhuma das amostras estavam acima do limite de quantificação. Os níveis detectados variaram entre 1,18 e 4,09 µg/kg.

Os valores de FB_{total} menos expressivas foram de 1,18 e 1,55 µg.kg⁻¹ nos HB 05 (20A20 TOP2[®]) e HB 02 (20A30 VIPTERA3[®]), respectivamente, e HB 01 (HB 01: 22S18 TOP2[®]), com maior valor (4,09 µg/kg) mesmo assim, estando abaixo do LMT brasileiro (FB_{total}: 5.000 µg/kg), inclusive abaixo do valor preconizado pelo *Food and Drug Administration - FDA* (US - 4000 µg/kg) (BRASIL, 2011, 2013; FDA, 2001).

Cruz (2010) avaliou FBs em milho para a produção de alimentos destinados à animais em Pirassununga (SP) , e detectou 431 a 6.495 µg/kg. Estes valores foram superiores aos encontrados no presente estudo.

A contaminação de produtos agrícolas por fungos de campo e FBs depende de diferentes fatores, além da região geográfica (onde são cultivadas) e as estações de plantio / colheita, também as condições climáticas (temperatura, precipitação de chuva e umidade relativa - UR). Como grãos no Brasil são cultivadas principalmente em regiões subtropicais, foram relatados como propensos à contaminação de FBs (LAZZARI, 1993).

Asevedo *et al.* (1994), pesquisaram a microbiota fúngica e espécies produtoras de aflatoxinas em 90 amostras de milho estocados em diferentes regiões do Brasil, também isolaram os seguintes gêneros de fungos filamentosos apresentados em ordem decrescente de ocorrência: *Aspergillus* (72,2%), *Penicillium* (67,7%), *Fusarium* (62,2%). Adebajo *et al.* (1994) investigando a microbiota fúngica de milho e produtos à base de milho, também verificaram que os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* eram predominantes. Já Castro *et al.* (1995), estudando a microbiota em milho coletado em diferentes localidades do Estado de São Paulo, verificaram que os gêneros predominantes eram *Fusarium* e *Penicillium*, e o gênero *Aspergillus* foi o de menor frequência.

Os fungos do gênero *Aspergillus* são os indicadores de deterioração em sementes

e grãos causando danos no germe, descoloração, alterações nutricionais, perda da matéria seca e os primeiros estágios da deterioração microbiológica (ALVES *et al.*, 2012). No âmbito internacional, o Codex Alimentarius estabelece limites para AFs em amendoim, amêndoa, avelã, castanha do Brasil, figos secos e pistache (10-15 µg/kg) e para OTA em trigo cru, cevada e centeio (5 µg/kg) (BROADLEY *et al.*, 2012). Em 2014, o Comitê de Contaminantes do Codex aprovou limites para fumonisinas (FB1+FB2) em grãos de cereais crus (4000 µg/kg) e em fubá e farinha de milho (2000 µg/kg). O estabelecimento de limites para DON (cereais crus, produtos processados e cereais para alimentação infantil) e AFs em arroz, milho, sorgo e trigo ainda está em discussão (CODEX, 2014).

A dificuldade de controlar o crescimento de fungos não provém somente das condições ambientais desfavoráveis no campo, mas também do desenvolvimento da resistência dos fungos frente a fungicidas convencionalmente utilizados. Para suprir a necessidade de reduzir e/ou inibir o desenvolvimento de fungos, é essencial os estudos de novos agentes anti-fúngicos que possam auxiliar nas estratégias atuais de controle. Estes agentes devem causar danos para as membranas fúngicas, entretanto, precisam manter a integridade dos grãos. Os agrotóxicos tradicionalmente utilizados como fungicidas tem várias desvantagens, incluindo toxicidade em altas concentrações e permanência de resíduos nos alimentos (FAO, 2014).

Alguns estudos tem demonstrado atividade antimicrobiana preventiva de várias nanopartículas, incluindo a prata (CHOI *et al.*, 2008) cobre (CIOFFI *et al.*, 2005) e óxido de zinco (LIU *et al.*, 2009). A atividade anti-fúngica de NPs de óxido de zinco já foi evidenciada, inibindo o crescimento de *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum* (HE *et al.*, 2011). Abreu *et al.* (2007) afirmam que o cobre (Cu) é cofator de muitas reações bioquímicas e fisiológicas nas plantas, participando dos processos de fotossíntese e respiração, e diretamente sobre os complexos reprodutivos. Além disso, o íon Cobre participa nos processos de indução de resistência e nos efeitos de proteção, proporcionando efeitos danosos do íon no interior dos microrganismos nocivos.

O Cu também desempenha papel no metabolismo de defesa das plantas. As enzimas polifenoloxidase, ascorbato oxidase e diamino oxidase contêm Cu e ocorrem nas paredes celulares desempenhando papel nas vias biossintéticas, desde fenol via quinona, até substâncias melanóticas e lignina explicam Kirkby e Römheld (2007).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Constata-se que a atividade antimicrobiana do cobre, sobretudo na forma de nanopartículas, ocorre neste estudo como em outros relatados de forma preventiva. Ocorre ainda que a lignina, e compostos ativos como a fitoalexina, presentes em quantidades significativas e diferenciadas em cada híbrido, agem como barreiras mecânicas contra a entrada de microrganismos. A deficiência de Cu reduz a atividade destes compostos ativos, diminuindo a presença de lignina, conseqüentemente, reduzindo a capacidade defensiva da planta.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, R. V.; BORBA, C. S. **Fatores que afetam a qualidade das sementes**. In: EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo; Tecnologia para produção de sementes de milho. Sete Lagoas, 1993, p. 7-10. (Circular Técnica, 19).

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa N° 60, de 22 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, DF, 23 dez. 2011. p. 3, Seção 1.

BRERA, C. *et al.* *Ochratoxin A* contamination in Italian wine samples and evaluation of the exposure in the Italian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 10611-10618, 2008.

DESPHANDE, S. S. The Science of Toxicology. **Handbook of Food Toxicology**, p. 8-16, 2002.

FAO. FAOSTAT - **Statistics division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2014.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011.

FRISVAD, J. *et al.* *Fumonisin B-2* production by *Aspergillus niger*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 23, p. 9727–9732, 2007.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Normas de apresentação tabular**. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Centro de documentação e disseminação de informações. 3ª ed. Rio de Janeiro: IBGE, 62p, 1993.

JANDREY, D. B. **Manejo de milho para altos rendimentos**. Informativo PIONEER, 38. ed., p. 14, 2014.

KUIPER-GOODMAN, T. **Risk assessment and risk management of mycotoxins in food**. In: MAGAN, N. E OLSEN, M. (Ed.). *Mycotoxins in food – Detection and control*. Cambridge - England: Woodhead Publishing Limited, p. 3-31, 2004.

MARTINS, F. A. *et al.* Daily intake estimates of fumonisins in corn-based food products in the population of Parana, Brazil. **Food Control**, v. 26, n. 2, p. 614–618, 2012.

MERCOLAB. **Análises laboratoriais - Unidade formadora de colônias (UFC), isolamento de fungos gêneros e identificação das espécies**. Chapecó, 2019.

PIANA, C.F.B.; MACHADO, A. A.; SELAU, L. P. R. **Estatística Básica**. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e Matemática, 1v., 2009.

RIBEIRO, P. E. A. *et al.* **Validação de métodos para determinação de zearalenona e fumonisinas totais por fluorimetria em amostras reduzidas de milho**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Embrapa Milho e Sorgo, 86.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regras para Análise de Sementes**, p. 31, 2009.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**: um sistema computacional de análise estatística. *Ciência e Agrotecnologia*. v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011.

CASTRO, M. F. P.; SOARES, L. M. V.; FURLANI, R. P. Z. Mycoflora, aflatoxigenic species and mycotoxins in freshly harvested corn (*Zea mays* L.): a preliminary study. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 289-295, 1995.

BROADLEY, M. *et al.* **Function of nutrients**: micronutrients. *In*: MARSCHNER, P. Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3. ed. Londres: Academic Press, p. 191-248, 2012

MARSCHNER, P. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3th ed. London: Academic Press, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 60, de 22 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, DF, 23 dez. 2011. p. 3, Seção 1.

LÁZZARI, A. F. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. Curitiba: Pallotti, 1993.

CRUZ, J. V. Ocorrência de aflatoxinas e fumonisinas em produtos à base de milho e milho utilizado como ingrediente de ração para animais de companhia comercializados na região de Pirassununga, Estado de São Paulo. 73 f., 2010. **Tese (Doutorado em Zootecnia)** - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP.

CALDAS, E. D.; SILVA, A. C. S. Mycotoxins in corn-based food products consumed in Brazil: An exposure assessment for fumonisins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 19, p. 7974–7980, 2007.

BORDIN, K. *et al.* Assessment of dietary intake of fumonisin B1 in São Paulo, Brazil. **Food Chemistry**, v. 155, p. 174–178, 15 jul. 2014.

ALVES, E.N.T.D.; VERDOLIN, A.L.G.; COSTA, R.V.; COTA, L.V.; SILVA, D.D., SILVA, O.A. **Alternativas de controle para redução de grãos ardidos na cultura do milho**. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, p. 2012.

ASEVEDO, I.G. *et al.* Mycoflora and aflatoxigenic species of *Aspergillus* spp. isolated from stored maize. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 25, n.1, p. 46-50, 1994.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex general standard for contaminants and toxins in food and feed**. CODEX STAN, p. 193-195, 2014.

BARLOW, E. Chemistry and formulation. *In*: **“Pesticide Application: Principles and Practice”**, p. 1 - 34. UK: Clarendon Press, 1985.

CHOI, O. *et al.* The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. **Water Research**, v. 42, n.12, p. 3066-3074, 2008.

CIOFFI, N. *et al.* Synthesis, analytical characterization and bioactivity of Ag and Cu nanoparticles embedded in poly-vinyl-methyl-ketone films. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 382, n. 8, p. 1912-1918, 2005.

LIU, Z.; GAO, J.; YU, J. Aflatoxins in stored maize and rice grains in Liaoning Province, China. **Journal of Stored Products Research**, v. 42, n.4, p. 468-479, 2006.

HE, L. *et al.* Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. **Microbiological Research**, v. 166, n.3, p. 207-215, 2011.

ABREU, C. A.; LOPES, A. S.; SANTOS, G. C. G. Micronutrientes. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H. A.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (eds). **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, UFV, p. 645-736, 2007.

KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V. **Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade**. Encarte técnico Informações Agronômicas. Piracicaba, n. 118, p. 1-24, jun. 2007.

FONSECA, M. J. O. **Sistemas de Produção Embrapa Milho e Sorgo**. Sete Lagoas: Colheita e Pós colheita, 2005. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/colsecagem.htm>> Acesso em: 20 abril. 2020.

COSTA, G.M.C.; COSTA, R.V., COTA, L.V.; SILVA, D.; GUIMARÃES, L.J.M.; SILVA, O.A.; MARCONDES, M.M.; RAMOS, T.C.D.A.; LANZA, F.E.; CORRÊA, C.L.; MOURA, L. O. **Resistência Genética e Características de Espigas na Incidência de Grãos Ardidos em Milho**. In XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, Águas de Lindóia, p. 733-741, 2012.

TISDALE, S.M.; NELSON, W.L.; BEATON, J.D. & HAVLIN, J.L. Soil fertility and fertilizers. 5.ed. New York, **Macmillan Publishing Company**, 1993. 634p.

ZHU, H.; HAN, J.; XIAO, J. Q.; JIN, Y. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, n. 6, p. 713-717, 2008.

ANDRADE, R. V.; BORBA, C. S. **Fatores que afetam a qualidade das sementes**. In: EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo; Tecnologia para produção de sementes de milho. Sete Lagoas, 1993, p. 7-10. (Circular Técnica, 19).