

Fungos filamentosos isolados de produtos derivados do milho comercializados em Recife, Pernambuco¹

SANDRA A.L. RIBEIRO², MARIA A.Q. CAVALCANTI^{2,3}, MARIA J.S. FERNANDES² e DÉBORA M.M. LIMA²

(recebido: 5 de junho de 2002; aceito: 12 de março de 2003)

ABSTRACT – (Filamentous fungi isolated from corn derived products). The diversity of filamentous fungi was investigated in three corn derived products: corn meal, corn starch and pre-cooked corn flour. For isolation it was used the plating method, in surface and in depth, with Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Medium (DRBC). Twenty three species of fungi, belonging to eight genera were identified. The highest percentage of species was found in corn meal (47%) followed by corn starch (29.5%) and pre-cooked corn flour (23.5%). *Aspergillus flavus* Link, *Fusarium moniliforme* Sheldon, *Penicillium funiculosum* Thom and *P. duclauxii* Delacroix were found in all substrates; *Penicillium brevicompactum* Dierckx was present in corn meal and corn starch, while *P. aurantiogriseum* Dierckx and *Rhizopus oryzae* Went & Prinsen Geerlings were detected in corn meal and pre-cooked corn flour. *Fusarium moniliforme* formed the highest number of colonies forming units (352). *Monascus ruber* van Tieghen is being cited for the first time to Brazil, in processed corn. Species of *Absidia*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Emericella*, *Fusarium*, *Monascus*, *Penicillium* and *Rhizopus* have been mentioned as contaminant of corn derived products.

Key words - Filamentous fungi, isolation, processed corn

RESUMO – (Fungos filamentosos isolados de produtos derivados do milho). A diversidade de fungos filamentosos foi analisada em três produtos derivados do milho: fubá, xerém e farinha de milho pré-cozida. Foi utilizado o método de plaqueamento em superfície e profundidade, utilizando meio de dicloran rosa de bengala cloranfenicol (DRBC). Foram isoladas 23 espécies de fungos filamentosos distribuídos em oito gêneros: *Absidia*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Emericella*, *Fusarium*, *Monascus*, *Penicillium* e *Rhizopus*. O maior número de espécies ocorrem no fubá (47%), seguido do xerém (29,5%) e farinha de milho (23,5%). *Aspergillus flavus* Link, *Fusarium moniliforme* Sheldon, *Penicillium funiculosum* Thom e *P. duclauxii* Delacroix estiveram presentes nos três substratos, enquanto *Penicillium brevicompactum* Dierckx foi isolado de fubá e xerém, e *P. aurantiogriseum* Dierckx e *Rhizopus oryzae* Went & Prinsen Geerlings foram detectados no fubá e farinha de milho pré-cozida. *Fusarium moniliforme* Sheldon produziu o maior número de unidades formadoras de colônias (352). *Monascus ruber* van Tieghen é citado pela primeira no Brasil, tendo sido isolado em milho processado. Espécies de *Absidia*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Emericella*, *Fusarium*, *Monascus*, *Penicillium* e *Rhizopus* são fungos contaminantes de produtos derivados do milho.

Palavras-chave - fungos filamentosos, isolamento, milho processado

Introdução

Os cereais são os produtos de origem agrícola mais consumidos no mundo e, em âmbito nacional, a cultura do milho predomina em termos de área cultivada e ocupação de mão-de-obra, sendo considerada de grande importância para a economia brasileira (Farias *et al.* 2000). O milho (*Zea mays* L.), cereal consumido “in natura” ou na forma de produtos industrializados, tem grande contribuição na alimentação humana e animal, devido principalmente às suas características

nutricionais como excelente fonte energética, em função do alto teor de amido, lipídios, proteínas e vitaminas encontradas nos grãos (Paterniani 1978). Existem mais de 600 derivados do milho, dos quais, aproximadamente 500 se destinam à alimentação humana (Pinazza 1993). Os produtos derivados do milho como farinha de milho, fubá, flocos de milho, canjiquinha, xerém, dentre outros, são bastante apreciados na culinária brasileira, tendo participação efetiva como componente básico na dieta alimentar das camadas mais pobres da população (Melo-Filho & Richetti 1997).

Em muitas regiões tropicais e subtropicais, o clima permite a produção agrícola durante o ano todo, porém, essas mesmas condições, alta umidade e temperatura, também são propícias ao desenvolvimento de fungos. A cultura do milho é muito vulnerável às pragas e doenças, que provocam danos na plantação, nos grãos

1. Parte da dissertação de Mestrado de Sandra Albuquerque Lima Ribeiro.
2. Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Micologia, Av. Prof. Nelson Chaves, s/n, 50670-420 Recife, PE, Brasil.
3. Autor para correspondência: xiliamac@terra.com.br

recém-colhidos e também nos grãos armazenados. Geralmente, o processo de infecção pelos fungos nas sementes e grãos começa já no campo, durante a fase de maturação dos grãos, e prossegue nas etapas seguintes, quando da colheita, secagem, armazenamento, transporte e processamento (Lazzari 1997).

No Brasil, poucos são os trabalhos referentes ao isolamento de fungos em produtos derivados do milho que se destinam ao consumo humano. Em geral, o enfoque central das investigações já realizadas dirige-se ao isolamento de fungos em grãos de milho recém-colhidos e armazenados e de rações animais, que têm como componente principalmente o milho. Face ao exposto, o presente trabalho teve como objetivos isolar e identificar fungos de produtos alimentícios derivados do milho processado como o fubá, a farinha de milho pré-cozida e o xerém.

Material e métodos

Amostras de produtos derivados do milho - Os produtos alimentícios derivados do milho, fubá, xerém e farinha de milho pré-cozida, foram adquiridos em diferentes estabelecimentos comerciais da região metropolitana do Recife (PE), totalizando três unidades do mesmo fabricante, em embalagens originais e invioladas. De cada produto, foi retirada uma amostra para isolamento dos fungos. O fubá e o xerém estavam acondicionados em sacos plásticos, enquanto a farinha de milho pré-cozida, em papel. Cada embalagem pesava 500 g e não havia ultrapassado a metade do prazo de validade, sendo registrado o número do lote, data de fabricação e prazo de validade do produto.

Isolamento e purificação - Para o plaqueamento das amostras em superfície de produtos derivados do milho (Silva *et al.* 1997), foram utilizadas 25 g de cada substrato analisado, sendo procedida a diluição em 225 mL de água destilada esterilizada (diluição 1:10). As amostras foram diluídas até a diluição 1:1000. De cada uma das três diluições, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para placas de Petri com o meio de cultura Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) (King *et al.* 1979, Henson 1981, Taniwaki 1996), em triplicata. Para o plaqueamento em profundidade, as diluições foram realizadas de maneira idêntica ao método de plaqueamento em superfície, diferenciando-se a partir da etapa de inoculação, visto que 1 mL de cada diluição foi transferida para placas de Petri, sem meio de cultura, adicionando-se, em seguida, 15 mL de DRBC. As placas foram agitadas, suavemente, com movimentos circulares. O crescimento das colônias a temperatura ambiente (TA 28 °C ± 1 °C) foi acompanhado por 72 horas. Após o período de incubação, foi feita a contagem das colônias (UFC) e, de cada conjunto de colônias semelhantes, foram repicados

fragmentos para tubos de ensaio contendo Ágar Sabouraud (Lacaz *et al.* 1991). Para purificação das amostras de fungos, os fragmentos das colônias foram semeados, em estria, em placas de Petri contendo Ágar Sabouraud suplementado com cloranfenicol ou rosa de bengala (Lacaz *et al.* 1991). Após confirmação da pureza, as colônias foram transferidas para tubos de ensaio contendo meios específicos, de acordo com o grupo do fungo a ser identificado.

Identificação dos fungos - As identificações foram realizadas com base no aspecto macroscópico e microscópico das colônias com descrição das colônias em meio Ágar Czapeck, Ágar Batata Dextrose e Ágar Extrato de Malte (Lacaz *et al.* 1991). Quando necessário, para melhor visualização das microestruturas, utilizou-se o método de cultura em lâmina (Riddell 1950). A identificação em nível de espécie foi feita segundo Raper *et al.* (1949), Booth (1971), Raper & Fennell (1977), Hawksworth & Pitt (1983) e Pitt (1988).

Resultados e Discussão

Foram isoladas 23 espécies de fungos filamentosos distribuídas em oito gêneros, totalizando 34 espécimes (tabela 1). Constatou-se que o maior número de espécies isoladas foi detectado no fubá de milho com 47%, seguido do xerém, com 29,5% e da farinha de milho, com 23,5% (tabela 1).

Na distribuição das espécies isoladas do fubá, farinha de milho e xerém, observou-se que *Fusarium moniliforme* Sheldon produziu o maior número de unidades formadoras de colônias totalizando 352 (tabela 2). O maior número de espécies foi isolado do fubá de milho, nas três diluições, tanto no plaqueamento em superfície, quanto em profundidade (tabela 3). Na farinha de milho e xerém, nas mesmas condições de semeio, houve menor ocorrência de espécies (tabelas 4, 5).

Aspergillus flavus Link, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium funiculosum* Thom e *P. duclauxii* Delacroix estiveram presentes nos três produtos derivados do milho; *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx, *P. brevicompactum* Dierckx e *Rhizopus oryzae* Went & Prinsen Geerlings foram detectados em dois produtos e as demais espécies (16) apenas em um produto (tabela 1).

Quanto ao número de espécies de fungos isoladas dos produtos de milho, observou-se que na farinha de milho pré-cozida e no xerém, foram assinalados números menores de espécies em relação ao fubá. Esse fato pode ser atribuído à forma de como é fabricada a farinha de milho, a partir da canjica, ou seja, do milho desprovido de pericarpo e de germe, que são as partes mais susceptíveis à invasão de fungos.

Tabela 1. Fungos isolados em produtos derivados do milho.

Table 1. Fungi isolated from corn derived products.

Espécies	Produtos			Total
	Fubá	Farinha de milho	Xerém	
<i>Absidia cylindrospora</i> Hagem	X			1
<i>Aspergillus candidus</i> Link	X			1
<i>A. flavus</i> Link	X	X	X	3
<i>A. tamaritii</i> Link		X		1
<i>Curvularia lunata</i> (Wakker) Boedijn	X			1
<i>Emericella nidulans</i> (Eidam) Vuill	X			1
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon	X	X	X	3
<i>Monascus ruber</i> van Tieghen	X			1
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx	X	X		2
<i>P. brevicompactum</i> Dierckx	X		X	2
<i>P. corylophilum</i> Dierckx			X	1
<i>P. crustosum</i> Thom	X			1
<i>P. duclauxii</i> Delacroix	X	X	X	3
<i>P. fellutanum</i> Biourge	X			1
<i>P. funiculosum</i> Thom	X	X	X	3
<i>P. griseofulvum</i> Dierckx			X	1
<i>P. herquei</i> Bainier & Sartory		X		1
<i>P. islandicum</i> Sopp			X	1
<i>P. pinophilum</i> Hedgcock			X	1
<i>P. purpurogenum</i> Stoll	X			1
<i>P. solitum</i> Westling	X			1
<i>P. variabile</i> Sopp			X	1
<i>Rhizopus oryzae</i> Went & Prinsen Geerlings	X	X		2
Total de Espécimes	16	08	10	34
Percentual	47%	23,5%	29,5%	100

Espécies de *Aspergillus* são consideradas iniciadoras da deterioração das sementes e grãos, causando danos ao germe, descoloração e alterações nutricionais, conforme mencionado por Meronuck (1987). *Aspergillus candidus* Link é exclusivamente fungo de armazenamento e está associado ao primeiro estágio de deterioração do grão. *Aspergillus flavus* pode ser considerado fungo de armazenamento, podendo invadir sementes de milho, no campo, quando as condições ambientais forem favoráveis (Lazzari 1997). Esse comportamento relaciona-se com a redução da umidade do subproduto durante o processamento. De acordo com Meronuck (1987), espécies de *Aspergillus* podem crescer com menor teor de água, seguindo-se,

Tabela 2. Unidades formadoras de colônias (UFC/g) das espécies isoladas do fubá, farinha de milho e xerém nos dois métodos de plaqueamento.

Table 2. Colony forming units (CFU/g) of the species isolated from corn meal, pre-cooked corn flour and corn starch in two plating methods.

Espécies	Produtos			
	Fubá	Farinha de milho	Xerém	Total
<i>Absidia cylindrospora</i>	1	-	-	1
<i>Aspergillus candidus</i>	1	-	-	1
<i>A. flavus</i>	10	5	4	19
<i>A. tamaritii</i>		27	-	27
<i>Curvularia lunata</i>	13	-	-	13
<i>Emericella nidulans</i>	4	-	-	4
<i>Fusarium moniliforme</i>	282	45	25	352
<i>Monascus ruber</i>	1	-	-	1
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	1	1	-	2
<i>P. brevicompactum</i>	1	-	3	4
<i>P. corylophilum</i>	1	-	2	3
<i>P. crustosum</i>	1	-	-	1
<i>P. duclauxii</i>	23	1	2	26
<i>P. fellutanum</i>	1	-	-	1
<i>P. funiculosum</i>	1	1	14	16
<i>P. griseofulvum</i>	-	-	1	1
<i>P. herquei</i>	-	1	-	1
<i>P. islandicum</i>	-	-	1	1
<i>P. pinophilum</i>	-	-	1	1
<i>P. purpurogenum</i>	2	-	-	2
<i>P. solitum</i>	1	-	-	1
<i>P. variabile</i>	-	-	19	19
<i>Rhizopus oryzae</i>	1	3	-	4
Total	345	84	72	501

após a contaminação, por *Penicillium*, com uma umidade mais elevada, inclusive, desenvolvida em função da atividade metabólica dos primeiros invasores.

Fusarium moniliforme esteve presente no fubá, farinha de milho pré-cozida e xerém (tabelas 3, 4, 5). Os fungos isolados, neste trabalho, do fubá, farinha de milho e xerém, foram também constatados por Pitt (1988) em grãos de milho, sementes de milho, rações à base de milho e produtos derivados, causando deterioração e biodeterioração. Mislivec & Tuite (1970a, b) e Pitt *et al.* (2000) relatam que *Penicillium funiculosum* e *P. brevicompactum* estão geralmente associados ao grão de milho.

Os resultados obtidos nesta pesquisa concordam

Tabela 3. Fungos isolados do fubá de milho, em três diluições, pelos métodos de plaqueamento em superfície e profundidade, semeado em meio Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC).

Table 3. Fungi isolated from corn meal in three dilutions by plating methods in surface and in depth, with Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC).

Espécies	Plaqueamento						Total
	Superfície			Profundidade			
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
<i>Absidia cylindrospora</i>				X			1
<i>Aspergillus candidus</i>					X		1
<i>A. flavus</i>				X			1
<i>Curvularia lunata</i>					X		1
<i>Emericella nidulans</i>			X			X	2
<i>Fusarium moniliforme</i>	X	X	X	X	X	X	6
<i>Monascus ruber</i>					X		1
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>					X		1
<i>P. brevicompactum</i>	X						1
<i>P. crustosum</i>						X	1
<i>P. duclauxii</i>	X		X		X	X	4
<i>P. fellutanum</i>					X		1
<i>P. funiculosum</i>		X					1
<i>P. purpurogenum</i>	X						1
<i>P. solitum</i>						X	1
<i>Rhizopus oryzae</i>				X			1
Total de Espécimes	4	2	3	4	7	5	25

com vários autores que estudaram o grão de milho armazenado e produtos derivados, sendo os principais fungos detectados pertencentes aos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*, os quais são bem conhecidos na deterioração de alimentos e produtos armazenados (Bullerman *et al.* 1975, Asevedo *et al.* 1994, González *et al.* 1995, Jullian *et al.* 1995, Zohri *et al.* 1995, Farias 2000).

Fusarium, considerado como fungo de campo, coloniza grãos e sementes durante o amadurecimento, de modo que o dano é causado antes da colheita. Esse fungo não se desenvolve durante o armazenamento, exceto ocasionalmente em milho armazenado com alto teor de umidade (Márcia & Lazzari 1998). A presença de espécies de *Fusarium* em grão e fubá explica-se pelo fato de que este fungo pode infectar extensivamente certas porções do grão de milho como a ponta de contato com o sabugo e o embrião (Scussel *et al.* 1986, Lazzari 1997). *Fusarium moniliforme* é considerado como o principal fitopatôgeno de várias gramíneas, sendo que no milho se destaca pela alta frequência e alta porcentagem de ocorrência, tanto no Brasil como em outros países e caracteriza-se, também, pela produção

de fumonisinas em milho, alimentos derivados do milho, milho pipoca e rações à base de milho (Booth 1971, Windhan & King 1983, Casa *et al.* 1998, Bullerman & Tsai 1994).

Dentre os fungos isolados, *Monascus ruber* van Tieghen está sendo referido pela primeira vez em milho processado, no Brasil.

Na análise da distribuição dos espécimes através dos métodos de cultura utilizados, observou-se que no método de plaqueamento em profundidade ocorreu maior diversidade de espécies, visto que em fubá de milho e xerém foram isolados 16 e 10 espécimes, respectivamente. Nas mesmas condições, pelo método de plaqueamento em superfície, foram isolados 9 e 5 espécimes, respectivamente (tabelas 3, 5). Provavelmente os diferentes volumes de inóculos utilizados nos dois métodos de plaqueamento, tenham interferido na quantidade de espécimes isolados.

No plaqueamento em superfície foram detectados três gêneros, com cinco espécies, enquanto no plaqueamento em profundidade, constataram-se, também, cinco espécies distribuídas em quatro gêneros. *Fusarium moniliforme* foi detectado nos dois métodos

Tabela 4. Fungos isolados da farinha de milho pré-cozida, em três diluições, pelos métodos de plaqueamento em superfície e profundidade, semeado em meio Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC).

Table 4. Fungi isolated from pre-cooked corn flour in three dilutions by plating methods in surface and depth, with Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC).

Espécies	Plaqueamento						Total
	Superfície			Profundidade			
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
<i>Aspergillus flavus</i>	X			X			2
<i>A. tamarii</i>				X			1
<i>Fusarium moniliforme</i>	X	X		X	X		4
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	X						1
<i>P. duclauxii</i>		X					1
<i>P. funiculosun</i>	X						1
<i>P. herquei</i>				X			1
<i>Rhizopus oryzae</i>				X			1
Total de Espécimes	4	2		5	1		12

de plaqueamento até a diluição 1:100. Na diluição 1:1000, nos dois métodos de plaqueamento empregados, não foi assinalada nenhuma espécie de fungo para a farinha de milho.

Em fubá de milho foram isoladas 16 espécies, representantes de 8 gêneros, o maior número de espécies isoladas entre os produtos analisados. Salienta-se, ainda, que *Penicillium* foi dominante, com oito espécies, e *Fusarium moniliforme* apresentou-se tanto em

profundidade, quanto em superfície, nos três níveis de diluição empregados (tabela 3). Na farinha de milho pré-cozida foram isoladas 8 espécies, distribuídas em quatro gêneros, com o menor número de espécies entre os produtos analisados, conforme dados da tabela 4. Quanto ao xerém de milho (tabela 5), constataram-se 10 espécies isoladas, representadas por três gêneros, sendo que a maioria das espécies pertence a *Penicillium*.

Os fungos de armazenamento, *Aspergillus*,

Tabela 5. Fungos isolados de xerém de milho, em três diluições, pelos métodos de plaqueamento em superfície e profundidade, semeado em meio Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC).

Table 5. Fungi isolated from corn starch in three dilutions by plating methods in surface and depth, with Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC).

Espécies	Plaqueamento						Total
	Superfície			Profundidade			
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
<i>Aspergillus flavus</i>	X			X			2
<i>Fusarium moniliforme</i>	X	X		X	X		4
<i>Penicillium brevicompactum</i>				X			1
<i>P. corylophilum</i>	X						1
<i>P. duclauxii</i>					X		1
<i>P. funiculosum</i>				X	X		2
<i>P. griseofulvum</i>			X				1
<i>P. islandicum</i>				X			1
<i>P. pinophilum</i>					X		1
<i>P. variabile</i>				X			1
Total de Espécimes	3	1	1	6	4		15

Penicillium e *Rhizopus*, foram encontrados em grande parte dos produtos analisados, destacando-se *Penicillium* como dominante em todos os produtos do milho. Evidenciou-se a predominância de espécies de *Penicillium* nos três produtos derivados do milho analisados sendo *Penicillium funiculosum* e *P. duclauxii* as mais freqüentes, seguindo-se *P. brevicompactum* e *P. aurantiogriseum*.

Agradecimentos – Ao governo do Estado do Acre, pela liberação da primeira autora para realizar o curso de Pós-Graduação, nível Mestrado.

Referências bibliográficas

- ASEVEDO, I.G., GAMBALE, W., CORRÊA, B., PAULA, C.R., ALMEIDA, R.M.A. & SOUZA, V.M. 1994. Mycoflora and aflatoxigenic species of *Aspergillus* spp. isolated from stored maize. *Revista de Microbiologia* 25:46-50.
- BOOTH, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Surrey.
- BULLERMAN, L.B., BACA, J.M. & STOTT, W.T. 1975. An evaluation of potential mycotoxin – producing molds in corn meal. *Cereal Foods World* 20:248-253.
- BULLERMAN, L.B. & TSAI, W.J. 1994. Incidence and levels of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and fumonisins in corn and corn-based foods and feeds. *Journal of Food Protection* 57:541-546.
- CASA, R.T., REIS, E.M. & ZAMBOLIN, L. 1998. Fungos associados à semente de milho produzido nas regiões sul e sudeste do Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 23:370-373.
- FARIAS, A.X., ROBBS, C.F., BITTENCOURT, A.M., ANDERSEN, P.M. & CORRÊA, T.B.S. 2000. Contaminação endógena por *Aspergillus* spp. em milho pós-colheita no estado do Paraná. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35:617-621.
- GONZÁLEZ, H.H.L., RESNIK, S.L., BOCA, R.T. & MARASAS, W.F.O. 1995. Mycoflora of Argentinian corn harvested in the main production area in 1990. *Mycopathologia* 130:29-36.
- HAWKSWORTH, D.L. & PITT, J.I. 1983. A new taxonomy for *Monascus* species based on cultural and microscopical characters. *Australian Journal of Botany* 31:51-61.
- HENSON, E.O. 1981. Dichloran as an inhibitor of mold spreading in fungal plating media: effects on colony diameter and enumeration. *Applied and Environmental Microbiology* 42:656-660.
- JULIAN, A.M., WAREING, P.W., PHILLIPS, S.I., MEDLOCK, V.F.P., MACDONALD, M.V. & DEL RIO, L.E. 1995. Fungal contamination and selected mycotoxins in pre- and post-harvest maize in Honduras. *Mycopathologia* 129:5-16.
- KING, A.D., HOCKING, A.D. & PITT, J.I. 1979. Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of fungi from foods. *Applied and Environmental Microbiology* 37:959-964.
- LACAZ, C.S., PORTO, E. & MARTINS, J.E.C. 1991. *Micologia médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico*. 8ª ed. Sarvier, São Paulo.
- LAZZARI, F.A. 1997. Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações. 2ª ed. Paranaset, Curitiba.
- MÁRCIA, B.A. & LAZZARI, F.A. 1998. Monitoramento de fungos em milho em grão, grits e fubá. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 18:363-367.
- MELO FILHO, G.A. & RICHETTI, A. 1997. Aspectos socioeconômicos da cultura do milho. *Embrapa, Circular Técnica* 5:13-21.
- MERONUCK, R.A. 1987. The significance of fungi in cereal grains. *Plant Disease* 71:287-291.
- MISLIVEC, P.B. & TUIITE, J. 1970a. Species of *Penicillium* occurring in freshly-harvested and in stored dent corn kernels. *Mycologia* 62:65-70.
- MISLIVEC, P.B. & TUIITE, J. 1970b. Temperature and relative humidity requirements of *Penicillium* isolated from yellow dent corn kernels. *Mycologia* 62:75-88.
- PATERNIANI, E. 1978. Melhoramento e produção do milho no Brasil. Fundação Cargill, Campinas.
- PINAZZA, L.A. 1993. Perspectiva do milho e do sorgo no Brasil. *In* Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade (L.T. Bull & H. Cantarella, eds.). Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, Piracicaba, p.1-10.
- PITT, J.I. 1988. A laboratory guide to common *Penicillium* species. 2nd ed. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, North Ryde.
- PITT, J.I., BASÍLICO, J.C., ABARCA, M.L. & LÓPEZ, C. 2000. Mycotoxins and toxigenic fungi. *Medical Mycology* 38(Supp.1):41-46.
- RAPER, K.B. & FENNELL, D.I. 1977. The genus *Aspergillus*. Williams & Wilkins Company, Florida.
- RAPER, K.B., THOM, C. & FENNELL, D.I. 1949. A manual of the penicillia. Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- RIDDELL, R.W. 1950. Permanent stained mycological preparation obtained by slide culture. *Mycologia* 42:265-270.
- SCUSSEL, M.V., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. & WILLIAM, J. 1986. Incidência de aflatoxina em milho (*Zea mays* L.) e em seus produtos derivados, comercializados na região de Campinas, Estado de São Paulo, Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 6:75-85.
- SILVA, N., JUNQUEIRA, V.C. & SILVEIRA, N.F.A. 1997. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. Varela, São Paulo.
- TANIWAKI, M.H. 1996. Meios de cultura para contagem de fungos em alimentos. *Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos* 30:132-141.

WINDHAM, M.T. & KING, S.B. 1983. Mycoflora of roots of maize at seedling and silking stages in Mississippi. *Plant Disease* 67:1366-1368.

ZOHRI, A.A., ABEL-SATER, M.A. & ISMAIL, M.A. 1995. Incidence of aflatoxinas and mould flora in corn snacks. *Journal Food Science Technology* 32:289-294.