

Milho: riscos associados à contaminação por *Fusarium verticillioides* e fumonisinas

Corn: risk associated with contamination by *F. Verticillioides* and fumonisins

Edson Luiz Zangrando Figueira¹; Alexandre Rodrigo Coelho²;
Elisabete Yurie Sataque Ono³; Elisa Yoko Hirooka^{4*}

Resumo

O milho (*Zea mays L.*) é uma cultura relevante na cadeia produtiva de alimentos com produção anual de 583 milhões de toneladas, onde o Brasil participa com aproximadamente 7% do total. Devido a propriedades nutricionais, o milho é acometido por inúmeros predadores, destacando-se *Fusarium verticillioides* Sacc. Nirenberg (*F. moniliforme* Sheldon) produtor de fumonisina, por ser o integrante que predomina a micoflora. Os efeitos deletérios estende-se do campo ao consumo em vista a distribuição mundial, contaminando o milho nos principais países exportadores. Para contornar os prejuízos, o domínio sobre princípios básicos referentes a infecção/micotoxicologia é fundamental, visando direcionamento adequado de medidas preventivas. Apresenta-se uma revisão sobre importância de milho, enfatizando o impacto da contaminação por *F. verticillioides*/fumonisina na segurança alimentar.

Palavras-chave: Milho, *Fusarium verticillioides*, fumonisina.

Abstract

Corn (*Zea mays L.*) is the main culture of the food productive chain with an annual production of 583 million tons, where Brazil accounts with approximately 7% of total. Regarding its nutritional properties, corn is attacked by several predators, with emphasis on fumonisin producing *Fusarium verticillioides* Sacc. Nirenberg (*F. moniliforme* Sheldon), which predominate in corn micoflora. The deleterious effects extend from field to consumption stage worldwide, affecting every corn exporter country. To overcome this problem, it is required the domain on basic knowledges about infection/mycotoxicology, for further adequate preventive directions. The importance of corn, with emphasis on the impact of *F. verticillioides*/fumonisin contamination in food safety is reviewed.

Key words: Corn, *Fusarium verticillioides*, fumonisin.

¹ Farmacêutico bioquímico formado pela Universidade Estadual de Londrina, Mestre em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, Doutor em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina. Tel: (043) 3371-4565 R. 203 (e-mail: hirooka@uel.br).

² Doutorando do Curso de Ciência de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos da Universidade Estadual de Londrina.

³ Docente do Programa de Mestrado em Biotecnologia - Departamento de Bioquímica/CCE/UEL. (e-mail: eysono@uol.com.br).

⁴ Docente do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos - Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos/CCA/UEL.

* Autor para correspondência.

Introdução

O milho é uma cultura mundial com produção anual de 583 milhões de toneladas, onde o Brasil participa com 7% do total e tem no Estado do Paraná, a parcela de 29% da safra.

As propriedades nutritivas do milho o elegeram como constituinte principal de ração animal com 60% da sua composição e como base alimentar em diversos países. Não obstante, este fator torna-o também o alvo vulnerável de deterioração, com destaque a *Fusarium verticillioides* Nirenberg (*F. moniliforme* Sheldon), que além de predominar na fitopatologia do milho, produz micotoxinas representadas principalmente pela fumonisina (FB). Esta toxina é produzida no estágio de pré-armazenagem, não sendo degradada pelo processamento industrial.

A deterioração fúngica no estágio de pré-colheita/armazenagem produz perigos potenciais ocultos de micotoxinas aliados às perdas no rendimento agrícola, qualidade sanitária e valor nutricional, estendendo o prejuízo econômico no percurso de toda cadeia alimentar. Salienta-se a importância de micotoxinas entre barreiras fitossanitárias imprescindíveis na comercialização de produtos agrícolas no mundo globalizado.

A seguir, discute-se a importância de milho no contexto nacional e internacional, associando aos perigos da contaminação de matéria-prima e produtos derivados por *F. verticillioides* e fumonisinas.

Milho

O milho é uma monocotiledônea de distribuição mundial pertencente à família das gramíneas (*Poaceae*), tribo *Maydeae*, gênero *Zea*, cientificamente denominado de *Zea mays* L. (FANCELLI, 1983). Classificado entre cereais de extrema importância na alimentação humana e animal, apresenta alta eficiência na produção de alimentos com qualidade nutricional, justificando a sua introdução como ingrediente nos mais diversos produtos derivados. A tribo *Maydeae* compreende

sete gêneros, sendo cinco asiáticos e dois americanos, onde *Zea mays* pertence ao último grupo. Este por sua vez se subdivide em cinco grupos, denominados de amiláceo, dentado, duro, pipoca e doce (MANGELSDORF, 1974).

Piperno e Flannery (2001) demonstraram que o espécime mais antigo, proveniente de Guilá Naquitz, Estado de Oaxaca-México, tem aproximadamente 6.250 anos (Figura 1). A domesticação do milho ocorreu entre 5.000 a 10.000 anos no México, provavelmente no Vale de Oaxaca (Estado de Oaxaca) e Vale de Balsas (Estados de Michoacán e Guerrero), seguindo-se para Tehuacán (Estado de Puebla) e Estado de Tamaulipas, atingindo o sudoeste dos Estados Unidos, conforme Figura 1 (WANG et al., 1999; PIPERNO, 2001; SMITH, 2001). Posteriormente difundiu-se para toda a América, permitindo expansão para outros continentes (WATSON; RAMSTAD, 1987).



Figura 1. Mapa do México localizando a origem e rota de disseminação do milho (*Zea mays*). Fonte: Piperno (2001).

As teorias sugerem que o milho seja originário do teosinte, envolvendo as espécies *Z. mays* subespécies *mexicana* e *parviglumis* (SZABÓ; BURR, 1996). Recentes estudos genéticos, citológicos e enzimáticos acumulados apontaram a origem tendendo para *Z. mays* subespécie *parviglumis*, proveniente do Vale de Balsas no Estado de Michoacán e Guerrero-México (PIPERNO; FLANNERY, 2001).

Embora citologicamente não haja diferença entre o milho e teosinte, quatro diferenças morfológicas marcantes localizam-se na inflorescência feminina (KATO, 1976; SZABÓ; BURR, 1996; WANG et al., 1999). A característica mais evidente é a inflorescência simples com a presença de envoltório em cada grão, formando espiga frágil com dupla fileira de grãos no teosinte, comparada a inflorescência aos pares, formando espiga com múltipla fileira, empalhada e resistente no milho (Figura 2).

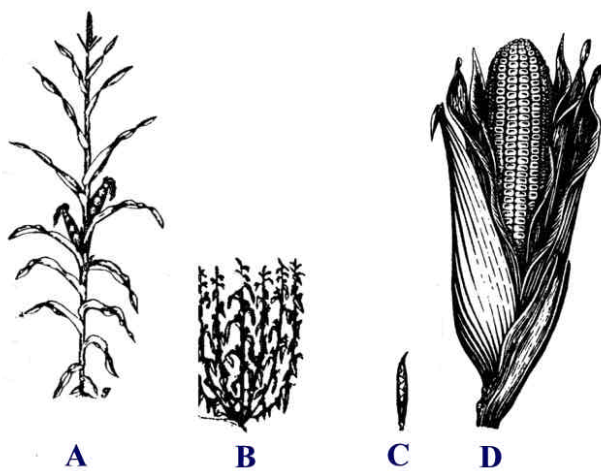


Figura 2. Principais diferenças entre o milho e o teosinte. **A.** inflorescência aos pares no milho. **B.** inflorescência simples no teosinte. **C.** espiga de teosinte com envoltório individual nos grãos e dupla fileira de grãos. **D.** espiga de milho com empalhamento e múltipla fileira de grãos. Fonte: Galinat (1992).

O milho mantém aproximadamente 70% da diversidade genética do progenitor (HILTON; GAUT, 1998; EYRE-WALKER et al., 1998). Os poucos genes que controlam a diferença majoritária entre o milho e teosinte concentram-se em cinco genes, denominados de *pd*, *dis 1*, *tr1*, *inc 1e tga 1* (BEADLE, 1980; SZABÓ; BURR, 1996).

Importância

O milho é o cereal mais cultivado, produzido em 77 países incluindo 53 em desenvolvimento, devido a facilidade de adaptação; i.e., permite cultivo desde

regiões de clima tropical a temperado (0 a 55^o de latitude norte e sul) e em nível do mar a 3.600 m de altitude (DOWSWELL; PALIWAL; CANTRELL, 1996). A produção anual está estimada em 583 milhões de toneladas (ton) e concentra-se nos Estados Unidos da América (EUA) com 264 milhões de ton, que consomem 211 milhões e exportam 64 milhões de ton, garantindo liderança nas exportações, seguida de Argentina e África do Sul. Em contrapartida, a União Européia, Japão, México, Sudeste Asiático e Coreia do Sul são os maiores importadores, somando-se 50 milhões de ton. (EUA, 2001).

O milho brasileiro é cultivado em todo país, correspondendo a 7% da produção mundial com área de 13 milhões de hectares (ha). A produtividade média atingiu 3 ton/ha e gerou 41 milhões de ton no ano de 2001, com 36 milhões destinados ao consumo; o excedente de 6 milhões de ton destinou-se a exportação (3 milhões) e armazenagem. A produção brasileira apresenta-se em pleno desenvolvimento e expansão, com o incremento nos índices de produtividade refletindo diretamente no rendimento total, dobrado nos últimos 11 anos. Nas safras 1992/93, 1993/94 e 1994/95, o Brasil produziu respectivamente 29,9; 29,6 e 36,1 milhões de ton, comparado a 41 milhões de ton na safra 2001. A região Norte produz 1,06 milhões de ton (produtividade média de 1,6 ton/ha), Nordeste 1,8 milhões de ton (produtividade de 0,7 ton/ha), Sudeste 8,1 milhões de ton (3,2 ton/ha) e Centro-Oeste 8,2 milhões de ton (3,7 ton/ha). Estes valores se distanciam num fator de 7 a 20 vezes da região Sul, contemplada com produção de 21,8 ton e produtividade de 4,1 ton/há. O Estado do Paraná é o maior produtor nacional com 8,3; 7,0 e 11,9 milhões de ton nos últimos 3 anos (1999 a 2001), correspondendo a 26, 22 e 29%, respectivamente, com indiscutível importância na produtividade (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2001).

A importância sócio-econômica do milho como ingrediente essencial da dieta evidencia-se pela

participação em mais de 500 produtos alimentícios. O milho sobressai pela maior diversidade aplicativa em relação a outros cereais, estendendo desde planta forrageira/ração a alimento humano. Em adição, a distribuição global, baixo custo, elevado número de cultivares e ampla propriedade biológica/industrial geram centenas de derivados. Cerca de 66% da produção mundial destina-se à alimentação animal, 20% ao consumo humano direto e 8% à indústria. O restante de 6% constitui a somatória de perdas e produção de sementes (DOWSWELL; PALIWAL; CANTRELL, 1996). No Brasil, 15% da safra 1996/97 destinou-se ao consumo industrial e 42% ao arração animal (PARANÁ, 1997).

Salienta-se que nos países desenvolvidos, o consumo per capita anual de grãos atinge aproximadamente 1000 kg, sendo 70 kg ingeridos diretamente na dieta e 930 kg indiretamente na forma de ração para a produção de carne e leite. Nos países da Ásia em desenvolvimento, o consumo per capita de 150 kg é quase na totalidade ingerido sob a forma de grãos *in natura* (DOWSWELL; PALIWAL; CANTRELL, 1996).

As propriedades nutritivas ricas em carboidratos (71,7% base seca-bs), proteínas (9,5% bs) e lipídios (4,3% bs) conferem qualidade apreciável à esta matéria-prima. Aliadas a presença de micronutrientes, as proteínas de considerável valor nutricional justificam a aplicação como principal ingrediente nas rações animais, além de contribuição à culinária humana (MUNKVOLD; DESJARDINS, 1997).

O milho constitui o principal alimento em diversos países da África, Ásia, América Central, América do Norte e América do Sul. Na América do Norte e Europa, o milho destina-se a produção de alimentos e bebidas, incluindo cereais matinais, "snacks" e cerveja. A forte corrente migratória de mexicanos aos EUA originou uma nova indústria, ampliando a variedade de alimentos do tipo mexicano no mercado norte americano (MUNKVOLD; DESJARDINS, 1997).

Não obstante, essa versatilidade no uso também se traduz a substrato adequado a microrganismos

indesejáveis, capaz de produzir os riscos ocultos oriundos de metabólitos secundários e tóxicos produzidos pelos fungos da microbiota de cereal.

Contaminação Fúngica e Micotoxinas

O requerimento perante água divide os fungos presentes nos grãos em dois grupos ecológicos, denominados de fungos de campo e armazenagem (CHRISTENSEN; KAUFMANN, 1974; CHRISTENSEN; SAUER, 1982). Os grupos de fungos de campo invadem os grãos no estágio de pré-colheita, ou nas espigas pós-colheita antes de debulhamento. Este grupo requer alto teor de umidade (20-21%) e inclui os gêneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Helminthosporium*. Os grupos de fungos de armazenagem requerem teor de umidade na faixa de 16% para a invasão micelial e compreendem as espécies pertencentes ao gênero *Aspergillus* e *Penicillium* (WATSON; RAMSTAD, 1987).

Determinados fungos desenvolvem-se nos grãos imaturo ou maduro, desde que seja próximo ao período de pós-colheita ou armazenagem, constituindo assim, o terceiro grupo denominado de intermediário, onde compreende os gêneros *Epicoccum*, *Nigrospora* e *Papularia* (KULIK; JUSTICE, 1967; MARSH; PAYNE, 1984). Segundo Hill, Wilson e McMillian (1985), esta classificação é inadequada nos trópicos úmidos, já que *Aspergillus* e *Penicillium* também podem se desenvolver no campo e produzir micotoxinas no estágio de pré-colheita.

As propriedades intrínsecas do milho associam-se a fatores biológicos de ataques fitopatogênicos e/ou de deterioração, com destaque especial a fungos micotoxigênicos. Salienta-se que *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. subglutinans*, *F. graminearum*, *F. solani*, *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *Colletotricum graminicola*, *Helminthosporium maydis*, *Stenocarpella maydis*, *S. macrospora*, *Diplodia* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp., *Epicoccum*

spp., *Nigrospora* spp., *Trichoderma* spp. e *Acremonium* spp. constituem os fungos mais frequentes na microbiota do milho (GONZÁLEZ et al., 1995; JULIAN et al., 1995; MACDONALD; CHAPMAN, 1997; KEDERA; PLATTNER; DESJARDINS, 1999; ONO et al., 1999; DESJARDINS et al., 2000; KPODO; THRANE; HALD, 2000; ORSI et al., 2000).

F. verticillioides Nirenberg (*F. moniliforme* Sheldon) e *F. proliferatum* são fungos de distribuição mundial, com alta ocorrência e infecção atingindo mais de 90% do milho, sendo que 90% das linhagens de *F. verticillioides* isoladas produzem fumonisina (BACON; NELSON, 1994). Esta frequência associada à concentração elevada de fumonisina causa prejuízo na suinocultura, avicultura, equinocultura e risco à saúde humana. Thiel et al. (1991) analisaram a toxigenicidade das cepas de *Fusarium* spp. obtidas de diferentes localidades, com efeito comprovado de intoxicação em cavalos, aves e suínos. A produção de fumonisina por *F. verticillioides* em meio preparado com milho variou de 85 a 7100 µg/g (FB₁) e 0 a 3000 µg/g (FB₂), enquanto que *F. proliferatum* produziu 20 a 1130 µg/g (FB₁) e 65 a 450 µg/g (FB₂). Os mesmos autores relataram pela primeira vez a toxicidade de *F. nygamai*, com produtividade de 605 µg/g (FB₁) e 530 µg/g (FB₂).

Os dois principais danos causados pelos fungos no milho são: (i) perda de peso/descoloração/necrose dos grãos e (ii) produção de micotoxinas, que consiste no fator decisivo na atual liberação de produtos agrícolas no comércio internacional (JULIAN et al., 1995).

Relatos recentes sobre a incidência de fungos e as respectivas micotoxinas evidenciam constante perigo a humanos e animais, requerendo medidas de controle eficaz, deflagrado principalmente pelos países fornecedores de produtos agrícolas. Atualmente, o Brasil inseriu no quadro de exportadores, porém apresenta deficiência no sistema de monitoramento e controle de micotoxinas (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2001).

Nas variedades brasileiras, deve-se enfatizar a predominância de contaminação por *F. verticillioides*, atingindo positividade de até 90,2% (FB₁) e 97,4% (FB₂) no Estado de São Paulo (ORSI et al., 2000) e de 100% (FB₁) e 97,7% (FB₂) no Estado do Paraná (HIROOKA et al., 1996; ONO et al., 1999). Os níveis mais elevados de fumonisinas com 0,87 a 49,31 µg/g (FB₁) e 1,96 a 129,16 µg/g (FB₂) foram detectados em São Paulo (ORSI et al., 2000), em relação ao valor máximo detectado de 10,59 µg/g (FB₁) e 10,31 µg/g (FB₂) no Paraná (HIROOKA et al., 1996). Procedendo-se um estudo detalhado sobre os níveis de contaminação em três regiões no Estado do Paraná, foi detectado maior concentração nas amostras de milho provenientes de Região Norte com níveis de 0,37 a 14,36 µg/g (FB₁) e 0,20 a 6,92 µg/g (FB₂), seguida de Região Centro-Oeste com 0,09 a 10,67 µg/g (FB₁) e 0,08 a 5,17 µg/g (FB₂) e menor concentração na Região Centro-Sul de 0,07 a 2,52 µg/g de FB₁ e 0,11 a 1,14 µg/g de FB₂ (ONO et al., 1999).

Os principais países exportadores de milho apresentaram perfil de contaminação semelhante. Murphy, Rice e Ross, (1993), monitorando FB₁, FB₂ e FB₃ no milho proveniente de Iowa, Wisconsin e Illinois durante 4 anos (1988-1991), observaram oscilações nas concentrações de FB₁ (0 a 37,9 µg/g), FB₂ (0 a 123,3 µg/g) e FB₃ (0 a 4,0 µg/g) com maior nível na safra 1989. Salienta-se que nesta safra, "National Service Laboratories" detectou numerosos relatos de leucoencefalomalácia equina e síndrome de edema pulmonar em suínos nos Estados de Arizona e Maryland, EUA.

Ross et al. (1991) analisaram alimentação animal envolvida em casos de intoxicação em Iowa, Illinois, Georgia, Carolina do Norte, Indiana, Nova York, Louisiana, Texas, Arizona, Mississippi, Virginia, Maryland e Delaware e detectaram níveis de FB₁ de até 330 µg/g. Munkvold e Desjardins (1997) detectaram até 330 µg/g (FB₁) em rações provenientes dos EUA, sendo detectados também elevados níveis em milho da China (155 µg/g de FB) e África do Sul (118 µg/g de FB).

González et al. (1995), preocupados com micotoxinas na Argentina, estudaram a microbiota interna e externa de 178 amostras de milho das regiões produtoras. *Fusarium* spp. predominou nas sementes, seguido de *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Epicoccum* spp., *Nigrospora* spp. e *Trichoderma* spp. Entre os integrantes internos de sementes prevaleceram *F. verticillioides* e *F. proliferatum*, enquanto que na microbiota externa predominou *Penicillium* spp.

Sydenham et al. (1993), analisando 17 amostras de milho de dois municípios argentinos, detectaram fumonisina total em níveis de 1,59 a 9,99 µg/g, sendo 1,11 a 6,70 µg/g (FB₁); 0,33 a 2,68 µg/g (FB₂) e 0,11 a 0,86 µg/g (FB₃). O principal contaminante consistiu de *F. verticillioides*, com todos os 12 isolados produzindo 50 a 8160 µg/g (FB₁), 5 a 1380 µg/g (FB₂) e 15 a 1430 µg/g (FB₃). Além dessas, todos os três isolados de *F. proliferatum* produziram fumonisina. Magnoli et al. (1999) obtiveram maior frequência de *F. verticillioides* (60,7%), seguido de *F. nygamai* (35,4%) no milho argentino, sendo que todos os isolados de *F. verticillioides*, *F. nygamai* e *F. proliferatum* produziram FB₁ (5,4 a 3991 µg/g), FB₂ (1,01 a 198 µg/g) e FB₃ (0,4 a 765 µg/g).

Nos países africanos constituídos de Botswana, Moçambique, África do Sul, Malawi, Zâmbia, Zimbabue, Kenia, Tanzânia e Uganda, a fumonisina ocorreu na frequência de 92,5% e nas concentrações de 0,02 a 2,74 µg/g, com FB₁ variando de 0,02 a 1,91 µg/g (DOKO et al., 1996). As maiores concentrações foram detectadas nas amostras provenientes de Zimbabue, embora todas as amostras de Botswana, África do Sul, Moçambique e Zâmbia apresentaram-se positivas para fumonisina. Avaliações posteriores realizadas em Botswana (SIAME et al., 1998), Kenia (KEDERA; PLATTNER; DESJARDINS, 1999), Zimbabue (MUBATANHEMA et al., 1999), Nepal (DESJARDINS et al., 2000) e em Gana (KPODO; TRRANE; HALD, 2000) confirmaram ocorrência e níveis de fumonisina semelhantes.

Na Comunidade Européia também obtiveram situação semelhante, monitorando milho proveniente de Itália, Croácia, Polônia, Portugal, Romênia (DOKO et al., 1995). Doko et al. (1995) dividiram os países em dois grupos, baseados na incidência/contaminação. No primeiro agruparam-se aqueles com alto índice de contaminação, estando incluídos a Itália e Portugal com incidência de 100% de *F. verticillioides* e FB₁ na faixa de 1,71 a 4,45 µg/g no milho. No segundo grupo incluíram os países com ocorrência de 50% de *F. verticillioides* e FB₁ com nível menor ou igual a 0,07 µg/g no milho.

Visconti e Doko (1994) examinaram 58 isolados de *F. verticillioides* e *F. subglutinans* provenientes de 41 amostras de milho, 4 de sorgo, 6 de trigo, 5 de cevada e 2 de rações e um isolado de *F. proliferatum* nos países europeus. Todos *F. verticillioides* e *F. proliferatum* produziram FB₁ (0,7 a 4100 µg/g), porém não se detectou concentrações significantes de FB₁ em *F. subglutinans*. Os isolados de milho produziram maiores concentrações de FB₁ (1259 µg/g), em relação ao trigo (769 µg/g) e cevada (320 µg/g).

Logrieco et al. (1995) analisaram 42 amostras de milho coletadas de diferentes regiões da Itália no período 1992/93 e obtiveram 34% de *F. proliferatum* e 54% de *F. verticillioides*. Os isolados de *F. proliferatum* produziram FB₁ nas concentrações entre 75 e 2250 µg/g, sugerindo maior significância desta espécie associada a micotoxinas em milho. Além destas espécies, *F. subglutinans* e *F. antophilum* pertencentes à secção *Liseola* produziram FB₁ e FB₂ (SALA et al., 1994).

Castellá, Bragulat e Cabañas (1999) detectaram *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp. em milho, produtos de milho e outros cereais na Espanha. *F. verticillioides* ocorreu em maior frequência (47,4%), sendo a maior concentração de fumonisina detectada no milho.

Julian et al. (1995) avaliaram milho em Honduras e obtiveram resultados similares a González et al. (1995). *F. verticillioides* foi o maior integrante na microflora, com FB₁ variando de 0,07 a 6,55 µg/g,

sendo que amostras positivas para *A. flavus* continham 0,01 a 0,13 $\mu\text{g/g}$ de aflatoxina.

Em suma, a ocorrência de *F. verticillioides* e fumonisina no milho abrange os cinco continentes, constatando-se também no Canadá (MILLER et al., 1995), Venezuela (MEDINA-MARTÍNEZ; MARTÍNEZ, 2000), Uruguai (PIÑEIRO et al., 1997), Índia (MACDONALD; CHAPMAN, 1997; SHETTY; BHAT, 1997; JANARDHANA; RAVEESHA; SHETTY, 1999; JINDAL; MAHIPAL; ROTTINGHAUS, 1999), China (GROVES et al., 1999), Coréia (SEO; LEE, 1999), Taiwan (TSENG; LIU, 1999) e Irã (SHEPHARD et al., 2000).

Vias de Contaminação

F. verticillioides (fase anamórfica) ou *Giberella fujikuroi* (fase teleomórfica) foi descrito e relacionado com patologia animal em 1904 (SHELDON, 1904 apud MUNKVOLD; DESJARDINS, 1997). *G. fujikuroi* consiste de sete espécies biológicas designadas de letras A a G, com a maioria pertencentes às espécies da seção *Liseola*, estando *F. verticillioides* alocado no grupo A (LESLIE, 1996). As espécies pertencentes aos grupos A e D produzem micotoxinas, com o grupo A englobando aproximadamente 90% das espécies de *Fusarium* endofíticas em milho (LESLIE, 1996).

A ampla distribuição geográfica de *F. verticillioides* estende desde regiões de clima temperado e tropical úmido a subtropical, causando podridão de raiz, colmo (Figura 3A), espiga (Figura 3B) e deterioração de grãos armazenados, ou seja, *F. verticillioides* causa doença em todas as fases do desenvolvimento do milho, seja nas raízes, colmo e grãos, cuja predominância de infecção assintomática permite disseminação total na planta (MUNKVOLD; DESJARDINS, 1997). O fato torna a contaminação numa questão preocupante, responsável pela perda de qualidade, agravada pela ocorrência de fumonisina em infecções assintomáticas (NELSON; TOUSSON; MARASAS, 1983).

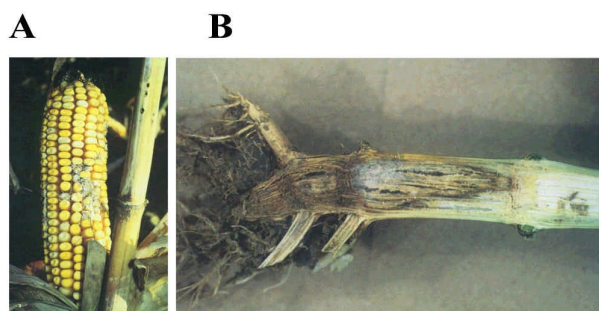


Figura 3. Podridão causada por *F. verticillioides*. **A.** podridão na espiga. **B.** Podridão no colmo. Fonte: Munkvold e Desjardins (1997).

Embora a colonização fúngica ocorra facilmente através de aberturas naturais ou regiões não celulolíticas, a estratégia de invasão nas plantas consiste na secreção de enzimas hidrolíticas com ênfase a quitinases, celulases, pectinases e proteases. Os três principais grupos enzimáticos exigidos na hidrólise de celulose durante a invasão são endoglucanases, exoglucanases e β -glucosidases (KNOGGE, 1996).

Durante a colonização, *F. verticillioides* produz α -D-galactosidase, β -D-glucosidase e N-acetil- β -D-glucosamidase, cuja atividade é complementada por mais quatro enzimas, excretadas em menor quantidade: β -D-fucosidase, α -D-manosidase, β -D-xilosidase e N-acetil- α -D-glucosamidase (MARÍN et al., 1998).

F. verticillioides é endofítico no milho, penetrando nos grãos através do ponto de inserção da semente com a espiga (CHAMBERLAIN et al., 1993), alojando abaixo do pericarpo e prosseguindo disseminação pela semente (BULLERMAN; TSAI, 1994).

O ciclo de infecção/doença de *F. verticillioides* é um sistema complexo, associado com todas as fases do desenvolvimento. A fusariose parece iniciar com a permanência de fungo nos resíduos de colheitas anteriores, capazes de prolongar a sobrevivência de hifas e contaminam as sementes, seguida de disseminação sistêmica ao colmo e espiga. Embora ainda não esteja confirmado, outro mecanismo proposto seria o desenvolvimento de

esporos durante a germinação, seguida de disseminação total (MUNKVOLD; DESJARDINS, 1997).

Outra via de contaminação consiste na disseminação de macro e microconídios pelo ar ou gotículas de chuva, atingindo diretamente o tecido vegetal, com ênfase a estigma. A transmissão por insetos integra o fator vetor com injúria à planta, estabelecendo local adequado para a instalação/germinação de conídios disseminados pelo ar ou chuva (Figura 4) (MUNKVOLD; DESJARDINS, 1997).

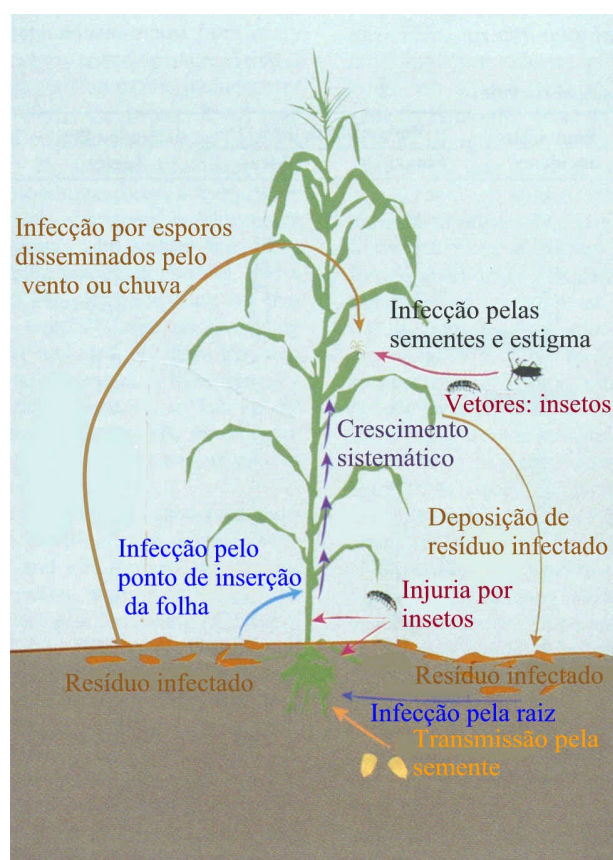


Figura 4. Ciclo da fusariose em milho com diferentes vias de infecção, destacando-se a infecção pelos grãos, estigma e injúria por insetos. Fonte: Munkvold e Desjardins (1997).

Munkvold, McGee e Carlton (1997), investigando as prováveis vias de invasão com sementes pré-inoculadas, detectaram transmissão de 10% (infectividade de 0 a 70%) para as espigas da nova planta. Outrossim, os resultados indicaram 100% de contaminação com utilização de vias baseadas na

invasão pelo estigma, evidenciando que *F. verticillioides* introduzidos por esta via poderiam prosseguir sistemicamente para a geração subsequente.

Condição de Crescimento

A germinação dos conídios de *F. verticillioides* é influenciada pela atividade de água (a_w), temperatura e pH (MARÍN; SANCHIS; MAGAN, 1995; MARÍN et al., 1996). Pesquisas estabeleceram a temperatura ótima para o crescimento de *F. verticillioides* entre 22,5 e 27,5°C, com máxima entre 32 e 37°C e mínima entre 2,5 e 5,0°C (BACON; NELSON, 1994). Todavia, Marín, Sanchis e Magan (1995) obtiveram desenvolvimento de *F. verticillioides* e *F. proliferatum* a 40°C, em a_w maior que 0,94. Nas temperaturas de 25, 30 e 40°C, estes cresceram em meios de cultivo com a_w 0,90, aumentando o crescimento quando se elevava a a_w para 0,98. O crescimento máximo ocorreu em pH 7,0 (*F. verticillioides*) e 5,5 (*F. proliferatum*). Analisando a interação a_w /temperatura/pH, o crescimento máximo a 20, 25 e 30°C ocorreu em a_w 0,994-0,980 e pH 7. Porém, não houve diferenças nas condições de pH e temperatura em a_w 0,96. Entretanto, a_w de 0,92 alterou as condições ótimas de pH (5,5) e temperatura (30°C). Os conídios de *F. verticillioides* germinaram entre 5-37°C em a_w maior que 0,88, cujo valor elevou-se com a queda de temperatura, sendo que a germinação deixou de ocorrer em temperatura acima de 42°C (MARÍN et al., 1996).

O milho armazenado com umidade de 18,4 a 23% forneceu condições ótimas de crescimento de *F. verticillioides* (BACON; NELSON, 1994). A porcentagem de grãos infectados aumentou significativamente no milho colhido com umidade inicial de 12,4% e armazenados por 8 meses (umidade final de 13,7%). A constatação de crescimento durante a armazenagem indicou provável produção de micotoxinas no período (BACON; NELSON, 1994). Não obstante, a competição entre os fungos da microflora diminuiu a colonização de *F.*

verticillioides na estocagem em diferentes temperaturas e a_w , devendo-se considerar o efeito de interação microbiana.

Fumonisina

As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos, relevantes devido a bioatividade associada a efeitos tóxicos em humanos, animais e plantas (BENNETT; RICHARD, 1996; RITIENI et al., 1997; PLACINTA; D'MELLO; MACDONALD, 1999).

A fumonisina constitui um grupo de micotoxinas descoberto em 1988 (BEZUIDENHOUT et al., 1988), com produção constatada em *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. nygamai*, *F. anthophilum* e *F. napiforme* (NELSON; DESJARDINS; PLATTNER, 1993). *F. verticillioides* e *F. proliferatum* são os principais produtores, enquanto que *F. subglutinans*, o fungo frequente em condições climáticas similares, não produz fumonisina ou produz baixo nível sob determinadas condições (LESLIE et al., 1992).

A estrutura química da fumonisina consiste de um diéster de propano-1,2,3-ácido tricarbaminas e 2-acetilamina ou 2-amino-12,16-dimetil-3,5,10,14,15-pentahidroxiicosano, sendo que os grupos hidróxi dos carbonos 14 e 15 encontram-se esterificados com o carbóxi terminal do ácido tricarbálico (Figura 5) (BEZUIDENHOUT et al., 1988). As quatro principais categorias, denominadas de fumonisina A, B, C e P, são compostas por FA₁, FA₂, FA₃, FAK₁; FB₁, FB₂, FB₃, FB₄; FC₁, FC₂, FC₃, FC₄; FP₁, FP₂ e FP₃ (MUSSER; PLATTNER, 1997). Além destes 15 análogos, existem metabólitos adicionais pertencentes ao grupo, porém de menor importância (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2000). As FB₁, FB₂ e FB₃ ocorrem como contaminantes naturais em milho, contrastando-se com os análogos derivados que não têm sido naturalmente detectados (MURPHY; RICE; ROSS, 1993).

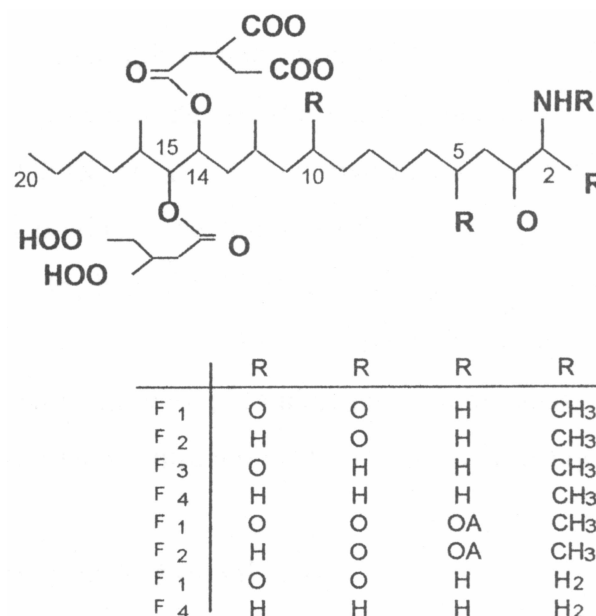


Figura 5. Estrutura de fumonisinas. Fonte: Sydenham e Shephard (1996).

O estudo genético determinou três loci relacionados com a síntese de fumonisina em *F. verticillioides*, denominados de *fum1*, responsável pelo controle da capacidade produtiva de toxina, enquanto que *fum2* e *fum3* controlariam a hidroxilação nos C-10 e C-5, respectivamente (DESJARDINS et al., 1995). Provavelmente a fumonisina é sintetizada pela rota metabólica similar a esfingosina, iniciando-se com a condensação de um aminoácido com acil-CoA, catalisada pela serina palmitoiltransferase. Estudos com isótopos estáveis indicaram a incorporação direta de alanina, que constituiria no precursor biossintético dos C-1 e C-2 (BRANHAM; PLATTNER, 1993; BLACKWELL; MILLER; SAVARD, 1994; PLATTNER; BRANHAM, 1994). Os carbonos C-3 ao C-20 poderiam prover de acetato pela via ácido graxo sintetase (BLACKWELL; MILLER; SAVARD, 1994), enquanto que o grupo hidroxila do C-4 poderia advir de uma molécula de hidrogênio dependente de hidroxilação (KULMACZ; SCHOEPFER, 1978). A conversão de ácido graxo a FB₄ resultaria de oxigenação nos C-14 e C-15; a oxigenação subsequente nos C-5 e C-10 produziria FB₃, FB₂ e

FB₁, deduzindo-se que FB₄, FB₃ e FB₂ sejam intermediários na síntese de FB₁.

Patogenia

A fumonisina causa perdas econômicas na avicultura, suinocultura e equinocultura, além de provável dano à saúde humana (NORRED; VOSS, 1994). Os ensaios biológicos demonstraram alta toxicidade da toxina, estrutura hidrolisada ou cadeias N-acetiladas (JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 2001).

Das hipóteses propostas pelo mecanismo de ação da fumonisina na toxicose animal, duas envolvem bloqueio na fase inicial de metabolismo lipídico. A primeira envolve o bloqueio do metabolismo de esfingolipídios (Figura 6), ou seja, inibição de ceramida sintetase, também denominada esfinganina ou esfingosina N-acil transferase (JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 2001). A semelhança estrutural da fumonisina com esfinganina e esfingosina resulta na inibição competitiva, com toxicidez resultante do aumento destes precursores e diminuição de esfingolipídios, induzindo inibição metabólica em vários tecidos (GELDERBLUM et al., 1992; RILEY et al., 1993). A segunda hipótese de mecanismo envolve o bloqueio do metabolismo de ácidos graxos e glicerofosfolipídios (JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 2001).

A fumonisina também atua nos sítios de regulação celular, aparentemente independentes da inibição do metabolismo lipídico, alterando proliferação e comunicação celular, adesão, apoptose, indução de estresse oxidativo e modulação de expressão gênica (ABADO-BECOGNEE et al., 1998; MOBIO et al., 2000).

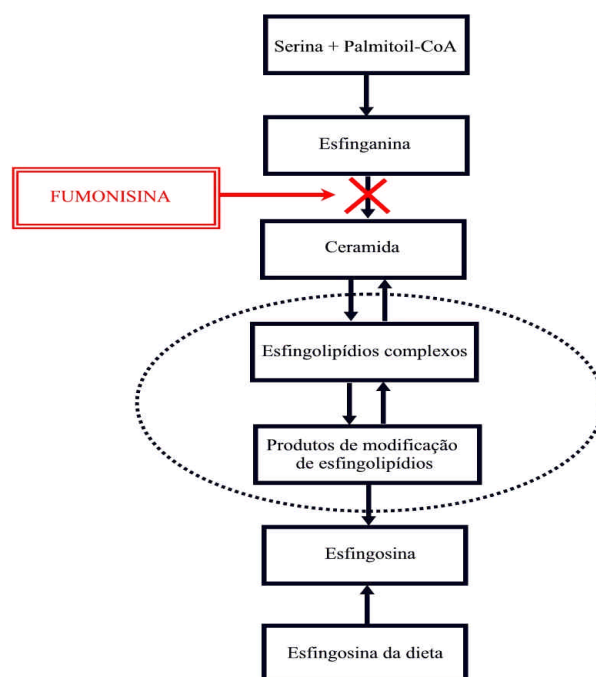


Figura 6. Mecanismo de ação da fumonisina com disrupção do metabolismo de esfingolipídios. Fonte: Riley et al. (1994).

Em equinos, a fumonisina causa leucoencefalomalácia com alta letalidade e mortalidade, primeiramente demonstrada pela administração intravenosa de FB₁ (MARASAS et al., 1988). A doença caracteriza-se pela necrose liquefativa no tecido cerebral e letargia, evoluindo para convulsão e morte (NORRED; VOSS, 1994). Soma-se ainda as lesões hepáticas e aumento da proporção esfinganina/esfingosina sérica (WANG et al., 1991). Este último fator provavelmente está relacionado ao efeito promotor de câncer, com a esfinganina retardando a multiplicação de células normais e acelerando o desenvolvimento de mutantes iniciadas (RILEY et al., 1994). Embora a concentração de fumonisina necessária para causar leucoencefalomalácia não esteja determinada, os resultados evidenciaram a sensibilidade dos equinos em relação a outros animais. Avaliações experimentais confirmaram o risco em níveis de fumonisina maiores que 10 µg/g de ração, não se observando aumento de risco em alimentação contendo níveis menores que 6 µg/g (ROSS, 1994).

Em suínos, a síndrome de edema pulmonar é o principal efeito, mas também observa-se alterações hepáticas, cardiovascular, sistema imune, metabolismo de esfingolipídios e desenvolvimento animal (HASCHEK et al., 2001). O quadro clínico geral consiste de dispnéia, enfraquecimento e morte dentro de 4-7 dias após ingestão de ração contendo mais de 92 µg/g de FB₁, ou 16 µg/g de peso corporal por dia em experiência de curta duração (HASCHEK et al., 1992; OSWEILER et al., 1992; MOTELIN et al., 1994). Na América do Norte e América do Sul observou-se síndrome de edema pulmonar com níveis de FB₁ entre 2 e 330 µg/g de ração, porém em alimentação naturalmente contaminada, os resultados sugeriram necessidade de 100 µg/g (MARASAS, 1995).

A literatura sobre contaminação de ração com *F. verticillioides* concentra em aves (BRYDEN; LOVE; BURGESS, 1987; JESCHKE; NELSON; MARASAS, 1987; BUIM et al., 1999). Neste animal, os principais efeitos de fumonisina caracterizam-se por diarreia, perda de peso/desenvolvimento corporal, aumento hepático e imunossupressão (MARIJANOVIC et al., 1991). A alimentação com ração contendo 75 a 525 µg/g de FB₁ promoveu redução no ganho de peso, aumento hepático/renal com elevação de enzimas séricas e necrose hepática (WEIBKING et al., 1993). Em doses próximas a 150 µg/g, houve elevação de esfinganina livre e aumento da razão esfinganina/esfingosina. O monitoramento de fumonisina em ovos embrionados indicou o acúmulo da toxina nas células epiteliais dos túbulos contorcidos distais e proximais, assim como no citoplasma de hepatócitos (BUIM et al., 1999). A morte do embrião ocorreu dentro de 10 dias após inóculo com 10 µg de FB (BACON; PORTER; NORRED, 1995).

Em animais experimentais, a fumonisina causou redução de peso em ratos alimentados com ração contendo FB₁, FB₂ e FB₃ ou monometil éster de FB₁ (GELDERBLOM et al., 1988; GELDERBLOM et al., 1993; GELDERBLOM et al., 1994; BONDY et al., 1998). A FB₁ não causou efeito teratogênico em ratos, camundongos ou coelhos, porém em

concentração elevada houve efeito embriotóxico, além de hepato/nefrotoxicidade em ratos, camundongos, equinos e suínos (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2000; VOSS et al., 2001). A exposição prolongada a alta concentração de FB₁ em roedores apresentou caráter promotor de câncer hepático e estudos posteriores relataram também o tumor renal (GELDERBLOM et al., 1994; JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 2001).

Embora o efeito de fumonisina em humanos não esteja definido, existem relatos de sintomas gastrointestinais na Índia (BHAT et al., 1997), assim como apoptose em cultura de células humanas (TOLLESON et al., 1999). Não obstante, a associação de exposição humana a fumonisina concentra-se no provável efeito promotor de câncer esofágico na África do Sul (SYDENHAM et al., 1990; RHEEDER et al., 1992), China (CHU; LI, 1994) e norte da Itália (FRANCESCHI et al., 1990). O milho é o principal alimento nas regiões endêmicas de câncer esofágico em Transkei (África do Sul), onde frequentemente ocorre alta contaminação por *F. verticillioides* e fumonisina (SYDENHAM et al., 1990; RHEEDER et al., 1992). O mesmo panorama ocorre na China e Itália (CHU; LI, 1994; FRANCESCHI et al., 1990), sendo este o motivo pelo qual a “International Agency for Research on Cancer” decidiu o enquadramento de FB₁ no grupo 2B, classificado como possível carcinógeno (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2000).

Ueno et al. (1997) apontaram as fumonisinas entre os fatores promotores de câncer hepático primário, baseado no levantamento epidemiológico de 3 anos consecutivos realizados em Heimen e Penlai, consideradas áreas de alto e baixo risco de câncer hepático na China, respectivamente. De um total de 120 amostras de Heimen, 66,7% apresentaram fumonisinas em níveis de 0,14 a 34,8 µg/g, em relação a 45% em Penlai (0,078 a 14,1 µg/g). Todavia, ainda depende de estudos conclusivos, em vista da constante exposição ao tabagismo e alcoolismo no

dia a dia (NORRED; VOSS, 1994; BULLERMAN; DRAUGHON, 1994).

Embora ainda não existam limites legais estabelecidos para fumonisinas, os níveis máximos recomendados pelo “Mycotoxin Committee of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians” situam-se em 5, 10, 50 e 50 µg/g para ração destinada aos equinos, suínos, bovinos e aves, respectivamente (MUNKVOLD; DESJARDINS, 1997).

Fumonisina em Produtos Derivados de Milho

O milho é um ingrediente apreciado na indústria de alimentos e ração animal, cujo processo industrial não elimina eficientemente a fumonisina pré-existente na matéria-prima. O fato é comprovado pela detecção em cerveja (SCOTT; LAWRENCE, 1995; SCOTT, 1996), polenta, milho doce, pipoca (VISCONTI; DOKO, 1994), farinha de milho, semolina, “corn flakes”, “snacks”, biscoitos, purê, massas, tortilhas e leite (SHEPHARD et al., 1996).

Os estudos sobre a ocorrência de fumonisinas demonstraram maiores níveis no grão de milho integral e nos derivados submetidos ao processamento mínimo, ou sob condições brandas. Consequentemente, comparando a farinha de milho, polvilho e canjica submetidos apenas ao processo de moagem, os derivados altamente processados constituídos de “corn flakes”, cereais matinais, “chips” e tortilha apresentaram níveis não detectáveis ou baixos de fumonisinas (BULLERMAN, 1996).

A industrialização de milho utiliza desde quebra do grão por moagem seca ou úmida, a processos extensivos de fermentação, cozimento alcalino e extrusão. A moagem seca promove separação de diferentes frações e redução de granulometria, mantendo a maioria de características originais dos grãos (BENNETT; RICHARD, 1996). Não existem estudos específicos sobre a distribuição de fumonisinas nas diferentes frações obtidas, mas tem-se detectado sua presença em diferentes produtos

obtidos por este processo e destinados à alimentação humana (STACK; EPPLEY, 1992).

A moagem úmida, processo mais utilizado na obtenção de produtos destinados ao consumo humano, reduziu a concentração de micotoxinas (BENNETT; RICHARD, 1996). Bennett, Richard e Plattner (1994) recuperaram 22% de FB₁ na água de processamento de milho, 35% no glúten, 35% nas fibras e 8% no germe, não se detectando toxina no amido. A fermentação não degradou a fumonisina, detectando-se 85% da concentração inicial no produto destinado à alimentação animal (BENNETT; RICHARD, 1996).

O cozimento alcalino é um processo mexicano tradicional para obtenção de tortilhas e derivados, que vem sendo disseminado nos EUA e países diversos (SERNA-SALDIVAR; ROONEY; GREENE, 1991). O processamento consiste no cozimento do milho com óxido de cálcio, seguido de maceração e obtenção de “nixtamal” básico para o preparo de alimento e reduz aproximadamente 80% de fumonisina originalmente presente no milho (DOMBRINK-KURTZMAN et al., 2000; VOSS et al., 2001).

A extrusão é um processo contínuo combinando calor, pressão e atrito mecânico para modificação estrutural do material, sendo amplamente empregado na indústria de “snack”, cereais matinais, entre outros (KATTA et al., 1999). A extrusão degrada os componentes tóxicos, incluindo inibidores de tripsina, e reduz a contaminação microbiológica, assim como a concentração de fumonisinas (CASTELO et al., 1998; KATTA et al., 1999).

Nos processamentos drásticos ocorre redução dos níveis de micotoxinas, porém não se discute sobre a toxicidade de produtos oriundos da degradação. Badria, Abbas e Shier (1995) demonstraram a formação de FB₁ hidrolisada, que mantém as mesmas características tóxicas da toxina.

A contaminação de milho e subprodutos por fumonisina é de ocorrência mundial, embora em menor grau nos países de clima temperado. A

frequência de fumonisina em produtos comerciais indica a constante exposição dos consumidores, podendo associar-se a riscos de toxicose crônica (SHEPHARD et al., 1996).

Conclusão

Considerando que o milho é uma cultura mundial com produção anual de 583 milhões de toneladas, cuja importância centra-se na matéria-prima básica da cadeia produtiva de alimentos, esforços visando garantia fitossanitária continuam sendo assunto prioritário à saúde humana e animal. As propriedades nutricionais do milho permitem que o mesmo seja alvo susceptível a predadores, onde *F. verticillioides*, produtor de micotoxinas do grupo de fumonisina, constitui o integrante que predomina a micoflora, cujos efeitos tóxicos estendem-se à agricultura, equinocultura, suinocultura, avicultura e saúde humana. O processamento industrial não degrada a toxina, sendo detectado nos produtos derivados. Por outro lado, o melhoramento/engenharia genética visando obtenção de híbridos resistentes a *Fusarium*/ produção de micotoxinas são assuntos ainda discutidos, em adição a esforços visando redução do intervalo de colheita/secagem, por exemplo a preocupação no transporte e ao longo da secagem. Estes fatores se traduzem na dificuldade do controle de *F. verticillioides*, devendo-se dominar conhecimentos fundamentais básicos referentes ao monitoramento, para direcionar melhor as medidas preventivas. No contexto, são fundamentais a ciência sobre milho como substrato alvo e vias de contaminação e desencadeamento de infecção/ produção de micotoxinas, para consolidar a base sólida preventiva na cadeia produtiva de alimentos. A distribuição ubíquo de *F. verticillioides*/fumonisina acometendo milho de principais países exportadores é responsável pela perda econômica severa, indicando claramente a necessidade de um mundo globalizado que concilie o interesse de agronegócio com a segurança alimentar.

Referências

- ABADO-BECOGNEE, K.; MOBIO, T. A.; ENNAMANY, R.; FLEURAT-LESSART, F.; SHIER, W. T.; BADRIA, F.; CREPPY, E. E. Cytotoxicity of fumonisin B₁: implication of lipid peroxidation and inhibition of protein and DNA synthesis. *Archives of Toxicology*, New York, v.72, p.233-236, 1998.
- BACON, C. W.; NELSON, P. E. Fumonisin production in corn by toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.57, n.6, p.514-521, 1994.
- BACON, C. W.; PORTER, J. K.; NORRED, W. P. Toxic interaction of fumonisin B₁ and fusaric acid measured by injection into fertile chicken eggs. *Mycopathologia*, Den Haag, v.129, p.29-35, 1995.
- BADRIA, F. A.; ABBAS, H. K.; SHIER, W. T. Chemical transformation of hydrolyzed fumonisin B₁ to hydrolyzed fumonisin B₂. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.43, n.8, p.1989-1992, 1995.
- BEADLE, G. W. The ancestry of corn. *Scientific American*, New York, v.242, p.112-119, 1980.
- BENNETT, G. A.; RICHARD, J. L. Influence of processing on *Fusarium* mycotoxins in contaminated grains. *Food Technology*, Chicago, v.50, n.5, p.235-238, 1996.
- BENNETT, G. A.; RICHARD, J. L.; PLATTNER, R. D.; ECKHOFF, S. R. Distribution of fumonisins in food and feed products prepared from contaminated corn. In: JACKSON, L. S.; DE VRIES, J. W.; BULLERMAN, L. B. (Ed.). *Fumonisin in food*. New York: Plenum Press, 1994. p.317-322.
- BEZUIDENHOUT, S. C.; GELDERBLUM, W. C. A.; GORST-ALLMAN, C. P.; HORAK, R. M.; MARASAS, W. F. O.; SPITELLER, G.; VLEGGAR, R. Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *Chemical Communications*, London, v.11, p.743-745, 1988.
- BHAT, R. V.; SHETTY, P. H.; AMRUTH, R. P.; SUDERSHAN, R. V. A foodborne disease outbreak due to the consumption of fumonisin contaminated sorghum and maize. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology*, New York, v.35, p.249-255, 1997.
- BLACKWELL, B. A.; MILLER, J. D.; SAVARD, M. E. Production of carbon 14-labeled fumonisin in liquid culture. *Journal of AOAC International*, Arlington, v.77, p.506-511, 1994.
- BONDY, G. S.; SUZUKI, C. A. M.; MUELLER, R. W.; FERNIE, S. M.; ARMSTRONG, C. L.; HIERLIHY, S. L.; SAVARD, M. E.; BARKER, M. G. Gavage administration of the fungal toxin fumonisin B₁ to female Sprague-Dawley

- rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, New York, v.53, p.135-151, 1998.
- BRANHAM, B. E.; PLATTNER, R. D. Alanine is a precursor in the biosynthesis of fumonisin B₁ by *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia*, Den Haag, v.124, p.99-104, 1993.
- BRYDEN, W. L.; LOVE, R. J.; BURGESS, L. W. Feeding grain contaminated with *Fusarium graminearum* and *Fusarium moniliforme* to pigs and chickens. *Australian Veterinary Journal*, Brunswick, v.64, p.225-226, 1987.
- BUIM, M. R.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; GUIMARÃES, I. G.; KAWAMURA, O.; UENO, Y.; HIROOKA, E. Y. Immunohistochemistry of fumonisin in poultry using avidin-biotin-peroxidase system. *Natural Toxins*, New York, v.7, p.279-282, 1999.
- BULLERMAN, L. B. Occurrence of *Fusarium* and fumonisins on food grains and in foods. In: JACKSON, L. S.; DE VRIES, J. W.; BULLERMAN, L. B. (Ed.). *Fumonisin in food*. New York: Plenum Press, 1996. p. 27-38.
- BULLERMAN, L. B.; DRAUGHON, F. A. *Fusarium moniliforme* and fumonisin symposium - introduction. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.57, p.513, 1994
- BULLERMAN, L. B.; TSAI, W. Y. J. Incidence and level of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and fumonisins in corn and corn-based foods and feeds. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.57, n.6, p.541-546, 1994.
- CASTELLÁ, G.; BRAGULAT, M. R.; CABAÑES, F. J. Surveillance of fumonisins in maize-based feeds and cereals from Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.47, p.4707-4710, 1999.
- CASTELO, M. M.; KATTA, S. K.; SUMNER, S. S.; HANNA, M. A.; BULLERMAN, L. B. Extrusion cooking reduces recoverability of fumonisin B₁ from extruded corn grits. *Journal of Food Science*, Chicago, v.63, n.4, p.696-698, 1998.
- CHAMBERLAIN, W. J.; BACON, C. W.; NORRED, W. P.; VOSS, K. A. Levels of fumonisin B₁ in corn naturally contaminated with aflatoxins. *Food and Chemical Toxicology*, Elmsford, v.31, n.12, p.995-998, 1993.
- CHRISTENSEN, C. M.; KAUFMANN, H. H. Microflora. In: CHRISTENSEN, C. M. *Storage of cereal grains and their products*. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 1974. p.158-192.
- CHRISTENSEN, C. M.; SAUER, D. B. Microflora. In: CHRISTENSEN, C. M. *Storage of cereal grains and their products*. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 1982. p. 219-240.
- CHU, F. S.; LI, G. Y. Simultaneous occurrence of fumonisin B₁ and other mycotoxins in moldy maize collected from the People's Republic of China in regions of high incidences of esophageal cancer. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.60, p.847-852, 1994.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Título. Local, 2001.
- DESJARDINS, A. E.; MANANDHAR, G.; PLATTNER, R. D.; MARAGOS, C. M.; SHRESTHA, K.; McCORMICK, S. P. Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Nepalese maize and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.48, p.1377-1383, 2000.
- DESJARDINS, A. E.; PLATTNER, R. D.; NELSEN, T. C.; LESLIE, J. F. Genetic analysis of fumonisin production and virulence of *Gibberella fujikuroi* mating population A (*Fusarium moniliforme*) on maize (*Zea mays*) seedlings. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.61, p.79-86, 1995.
- DOKO, M. B.; CANET, C.; BROWN, N.; SYDENHAM, E. W.; MPUCHANE, S.; SIAME, B. A. Natural co-occurrence of fumonisins and zearalenone in cereals and cereal-based foods from Eastern and Southern Africa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.44, p.3240-3243, 1996.
- DOKO, M. B.; RAPIOR, S.; VISCONTI, A.; SCHJOTH, J. E. Incidence and levels of fumonisin contamination in maize genotypes grown in Europe and Africa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.43, p.429-434, 1995.
- DOMBRINK-KURTZMAN, M. A.; DVORAK, T. J.; BARRON, M. E.; ROONEY, L. W. Effect of nixtamalization (alkaline cooking) on fumonisin-contaminated corn for production of masa and tortillas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.48, p.5781-5786, 2000.
- DOWSWELL, C. R.; PALIWAL, R. L.; CANTRELL, R. P. *Maize in the third world*. Oxford: Westview Press, 1996.
- EUA. Departamento de Agricultura dos EUA. Título. Local, 2001.
- EYRE-WALKER, A.; GAUT, R. L.; HILTON, H.; FELDMAN, D. L.; GAUT, B. S. Investigation of the bottleneck leading to the domestication of maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 95, p.4441-4446, 1998.
- FANCELLI, A. L. Tecnologia da produção. In: FANCELLI, A. L.; LIMA, U. A. *Milho: produção, processamento e transformação industrial*. São Paulo: Secretaria da Indústria e Comércio, Ciência e Tecnologia, 1983. p. 1-68

- FRANCESCHI, S.; BIDOLI, E.; BARON, A. E.; LA VECCHIA, C. Maize and risk of cancer of the oral cavity, pharynx and esophagus in Northeastern Italy. *Journal of the National Cancer Institute*, Bethesda, v.82, p.1407-1411, 1990.
- GALINAT, W. C. Evolution of corn. *Advances in Agronomy*, San Diego, v.47, p.203-229, 1992.
- GELDERBLUM, W. C. A.; CAWOOD, M. E.; SNYMAN, S. D.; MARASAS, W. F. O. Fumonisin B₁ dosimetry in relation to cancer initiation in rat liver. *Carcinogenesis*, Oxford, v.105, p.209-214, 1994.
- GELDERBLUM, W. C. A.; CAWOOD, M. E.; SNYMAN, S. D.; VLEGGAAR, R.; MARASAS, W. F. O. Structure activity relationship of fumonisins in short-term carcinogenesis and cytotoxicity assays. *Food and Chemical Toxicology*, Elmsford, v.31, p.407-414, 1993.
- GELDERBLUM, W. C. A.; JASKIEWICZ, K.; MARASAS, W. F. O.; THIEL, P. G.; HORAK, R. M.; VLEGGAAR, R.; KRIEK, N. P. J. Fumonisins – novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.54, p.1806-1811, 1988.
- GELDERBLUM, W. C. A.; MARASAS, W. F. O.; VLEGGAAR, R.; THIEL, P. G.; CAWOOD, M. E. Fumonisins: isolation, chemical characterization and biological effects. *Mycopathologia*, Den Haag, v.117, p.11-16, 1992.
- GONZÁLEZ, H. H. L.; RESNIK, S. L.; BOCA, R. T.; MARASAS, W. F. O. Mycoflora of Argentinian corn harvested in the main production area in 1990. *Mycopathologia*, Den Haag, v.130, p.29-36, 1995.
- GROVES, F. D.; ZHANG, L.; CHANG, Y. S.; ROSS, P. F.; CASPER, H.; NORRED, W. P.; YOU, W. C.; FRAUMENI JR, J. F. Fusarium mycotoxins in corn and corn products in a high-risk area for gastric cancer in Shandong Province, China. *Journal of AOAC International*, Arlington, v.82, n.3, p.657-662, 1999.
- HASCHEK, W. M.; GUMPRECHT, L. A.; SMITH, G.; TUMGLESON, M. E.; CONSTABLE, P. D. Fumonisin toxicosis in swine: An overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. *Environmental Health Perspectives*, Research Triangle Park, v.109, suppl.2, p.251-257, 2001.
- HASCHEK, W. M.; MOTELIN, G.; NESS, D. K.; HARLIN, K. S.; HALL, W. F.; VESONDER, R.; PETERSON, R. E.; BEASLEY, V. R. Characterization of fumonisin toxicity in orally and intravenously dosed swine. *Mycopathologia*, Den Haag, v.117, p.83-96, 1992.
- HILL, R. A.; WILSON, D. M.; McMILLIAN, W. W. Ecology of the *Aspergillus flavus* group and aflatoxin formation in maize and groundnut. In: LACEY, J. *Trichothecenes and other mycotoxins*. Chichester: John Wiley Sons, 1985. p.79-95.
- HILTON, H.; GAUT, B. S. Speciation of domestication in maize and its wild relatives: Evidence from the globulin-1 gene. *Genetics*, Chapel Hill, v.150, p.863-872, 1998.
- HIROOKA, E. Y.; YAMAGUCHI, M. M.; AOYAMA, S.; SUGIURA, Y.; UENO, Y. The natural occurrence of fumonisins in Brazilian corn kernels. *Food Additives and Contaminants*, London, v.13, n.2, p.173-183, 1996.
- INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. *Fumonisin B₁*. Finland: World Health Organization, 2000. (Environmental Health Criteria, 219)
- JANARDHANA, G. R.; RAVEESHA, K. A.; SHETTY, H. S. Mycotoxin contamination of maize grains grown in Karnataka (India). *Food and Chemical Toxicology*, Elmsford, v.37, p.863-868, 1999.
- JESCHKE, N.; NELSON, P. E.; MARASAS, W. F. O. Toxicity to ducklings of *Fusarium moniliforme* isolated from corn intended for use in poultry feed. *Poultry Science*, Champaign, v.66, p.1619-1623, 1987.
- JINDAL, N.; MAHIPAL, S. K.; ROTTINGHAUS, G. E. Occurrence of fumonisin B₁ in maize and poultry feeds in Haryana, India. *Mycopathologia*, Den Haag, v.148, p.37-40, 1999.
- JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 56., Feb. 2001, Geneva..
- JULIAN, A. M.; WAREING, P. W.; PHILLIPS, S. I.; MEDLOCK, V. F. P.; MacDONALD, M. V.; RÍO, L. E. Fungal contamination and selected mycotoxins in pre- and post-harvest maize in Honduras. *Mycopathologia*, Den Haag, v.129, p.5-16, 1995.
- KATO, Y. T. A. Cytological studies of maize (*Zea mays*) and teosinte (*Zea mexicana*) in relation to their origin and evolution. *Massachusetts Agricultural Experiment Station Bulletin*, Amherst, n.635, p. 1-185, 1976.
- KATTA, S. K.; JACKSON, L. S.; SUMNER, S. S.; HANNA, M. A.; BULLERMAN, L. B. Effect of temperature and screw speed on stability of fumonisin B₁ in extrusion-cooked corn grits. *Cereal Chemistry*, Saint Paul, v.76, n.1, 1999.
- KEDERA, C. J.; PLATTNER, R. D.; DESJARDINS, A. E. Incidence of *Fusarium* spp. and levels of fumonisin B₁ in maize in Western Kenya. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.65, n.1, p.41-44, 1999.
- KNOGEE, W. Fungal infection of plants. *The Plant Cell*, Rockville, v.8, p.1711-1722, 1996.

- KPODO, K.; THRANE, U.; HALD, B. *Fusaria* and fumonisins in maize from Ghana and their co-occurrence with aflatoxins. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v.61, p.147-157, 2000.
- KULIK, M. M.; JUSTICE, O. L. Some influences of storage fungi, temperature and relative humidity on the germinability of grain seeds. *Journal of Stored Products Research*, Elmsford, v.3, p.335-343, 1967.
- KULMACZ, R. J.; SCHOEPFER Jr, G. J. Sphingolipid base metabolism. Concerning the origin of the oxygen atom at carbon atom 4 of phytosphingosine. *Journal of the American Chemical Society*, Easton, v.100, p.3963-3964, 1978.
- LESLIE, J. F. Introductory biology of *Fusarium moniliforme*. In: JACKSON, L. S.; DE VRIES, J. W.; BULLERMAN, L. B. (Ed.). *Fumonisin in Food*. New York: Plenum Press, 1996. p.153-164.
- LESLIE, J. F.; PLATTNER, R. D.; DESJARDINS, A. E.; KLITTICH, C. J. R. Fumonisin B₁ production by strains from different mating populations of *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium* section *Liseola*). *Phytopathology*, Saint Paul, v.82, p.341-345, 1992.
- LOGRIECO, A.; MORETTI, A.; RITIENI, A.; BOTTALICO, A.; CORDA, P. Occurrence and toxigenicity of *Fusarium proliferatum* from preharvest maize ear rot, and associated mycotoxins, in Italy. *Plant Disease*, Saint Paul, v.79, n.7, p.727-731, 1995.
- MACDONALD, M. V.; CHAPMAN, R. The incidence of *Fusarium moniliforme* on maize from Central America, Africa and Asia during 1992-1995. *Plant Pathology*, Oxford, v.46, p.112-125, 1997.
- MAGNOLI, C. E.; SAENZ, M. A.; CHIACCHIERA, S. M.; DALCERO, A. M. Natural occurrence of *Fusarium* species and fumonisin-production by toxigenic strains isolated from poultry feeds in Argentina. *Mycopathologia*, Den Haag, v.145, p.35-41, 1999.
- MANGELSDORF, P. C. *Corn: Its Origin, Evolution, and Improvement*. Massachusetts: Harvard University Press, 1974. 262p.
- MARASAS, W. F. O. Fumonisin: Their implications for human and animal health. *Natural Toxins*, New York, v.3, p.193-198, 1995.
- MARASAS, W. F. O.; KELLERMAN, T. S.; GELDERBLUM, W. C. A.; COETZER, J. A. W. THIEL, P. G.; Vand der LUGT, J. J. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, Pretoria, v.55, p.197-203, 1988.
- MARIJANOVIC, D. R.; HOLT, P.; NORRED, W. P.; BACON, C. W.; VOSS, K. A.; STANCEL, P. C.; RAGLAND, W. L. Immunosuppressive effects of *Fusarium moniliforme* corn cultures in chickens. *Poultry Science*, Champaign, v.70, p.1895-1901, 1991.
- MARÍN, S.; SANCHIS, V.; MAGAN, N. Water activity, temperature, and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. *Canadian Journal Microbiology*, Ottawa, v.41, p.1063-1070, 1995.
- MARÍN, S.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J.; MAGAN, N. Effect of water activity on hydrolytic enzyme production by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* during colonization of maize. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v.42, p.185-194, 1998.
- MARÍN, S.; SANCHIS, V.; TEIXIDO, A.; SAENZ, R.; RAMOS, A. J.; VINAS, I.; MAGAN, N. Water and temperature relations and microconidial germination of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* from maize. *Canadian Journal Microbiology*, Ottawa, v.42, p.1045-1050, 1996.
- MARSH, S. F.; PAYNE, A. Pre-harvest infection of corn silk and kernels by *Aspergillus flavus*. *Phytopathology*, Saint Paul, v.74, p.1284-1289, 1984.
- MEDINA-MARTÍNEZ, M. S.; MARTÍNEZ, A. J. Mold occurrence and aflatoxin B₁ and fumonisin B₁ determination in corn samples in Venezuela. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.48, p.2833-2836, 2000.
- MILLER, J. D.; SAVARD, M. E.; SCHAAFSMA, A. W.; SEIFERT, K. A.; REID, L. M. Mycotoxin production by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* from Ontario and occurrence of fumonisin in the 1993 corn crop. *Canadian Journal of Plant Pathology*, Ottawa, v.17, p.233-239, 1995.
- MOBIO, T. A.; ANANE, R.; BAUDRIMONT, I.; CARRATU, M. R.; SHIER, W. T.; DANO-DJEDJE, S.; UENO, Y.; CREPPY, E. E. Epigenetic properties of fumonisin B₁: cell cycle arrest and DNA base modification in C6 glioma cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, San Diego, v.164, p.91-96, 2000.
- MOTELIN, G.; HASCHEK, W. M.; NESS, D. K.; HALL, W. F.; HARLIN, K. S.; SCHAEFFER, D. J.; BEASLEY, V. R. Temporal and dose-response features in swine fed corn screenings contaminated with fumonisin mycotoxins. *Mycopathologia*, Den Haag, v.126, p.27-40, 1994.
- MUBATANHEMA, W.; MOSS, M. O.; FRANK, M. J.; WILSON, D. M. Prevalence of *Fusarium* species of the *Liseola* section on Zimbabwean corn and their ability to produce the mycotoxins zearalenone, moniliformin and fumonisin B₁. *Mycopathologia*, Den Haag, v.148, p.157-163, 1999.

- MUNKVOLD, G. P.; DESJARDINS, A. E. Fumonisins in maize. Can we reduce their occurrence? *Plant Disease*, Saint Paul, v.81, n.6, p.556-565, 1997.
- MUNKVOLD, G. P.; MCGEE, D. C.; CARLTON, W. M. Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology*, Saint Paul, v.87, n.2, p.209-217, 1997.
- MURPHY, P. A.; RICE, L. G.; ROSS, P. F. Fumonisins B₁, B₂ and B₃ content of Iowa, Wisconsin, and Illinois corn and corn screenings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.41, n.2, p.263-266, 1993.
- MUSSER, S. M.; PLATTNER, R. D. Fumoinisn composition in cultures of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and *Fusarium nygamai*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.45, n.4, p.1169-1173, 1997.
- NELSON, P. E.; DESJARDINS, A. E.; PLATTNER, R. D. Fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium* species: biology, chemistry and significance. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v.31, p.233-252, 1993.
- NELSON, P. E.; TOUSSON, T. A.; MARASAS, W. F. O. *Fusarium species: an illustrated manual for identification*. Pennsylvania: Pennsylvania State University Press, 1983.
- NORRED, W. P.; VOSS, K. A. Toxicity and role of fumonisins in animal diseases and human esophageal cancer. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.57, p.522-527, 1994.
- ONO, E. Y. S.; SUGIURA, Y.; HOMECHIN, M.; KAMOGAE, M.; VIZZONI, E.; UENO, Y.; HIROOKA, E. Y. Effect of climatic conditions on natural mycoflora and fumonisins in freshly harvested corn of the State of Paraná, Brazil. *Mycopathologia*, Den Haag, v.147, p.139-148, 1999.
- ORSI, R. B.; CORRÊA, B.; POSSI, C. R.; SCHAMMASS, E. A.; NOGUEIRA, J. R.; DIAS, S. M. C.; MALOZZI, M. A. B. Mycoflora and occurrence of fumonisins in freshly harvested and stored hybrid maize. *Journal of Stored Products Research*, Elmsford, v.36, p.75-87, 2000.
- OSWEILER, G. D.; ROSS, P. F.; WILSON, T. M.; NELSON, P. E.; WITTE, S. T.; CARSON, T. L.; RICE, L. G.; NELSON, H. A. Characterization of an epizootic of pulmonary edema in swine associated with fumonisins in corn screenings. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Columbia, v.4, p.53-59, 1992.
- PARANÁ. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. *Acompanhamento da situação agropecuária no Paraná*. Curitiba, fev. 1997. v.23.
- PIÑEIRO, M. S.; SILVA, G. E.; SCOTT, P. M.; LAWRENCE, G. A.; STACK, M. E. Fumoinisn levels in Uruguayan corn products. *Journal of AOAC International*, Arlington, v.80, n.4, p.825-828, 1997.
- PIPERNO, D. R. On maize and the sunflower. *Science*, Washington, v.292, p.2260-2261, 2001.
- PIPERNO, D. R.; FLANNERY, K. V. The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: new accelerator mass spectrometry dates and their implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v.98, p.2101-2103, 2001.
- PLACINTA, C. M.; D'MELLO, J. P. F.; MacDONALD, A. M. C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v.78, p.21-37, 1999.
- PLATTNER, R. D.; BRANHAM, B. E. Labeled fumonisins: production and use of fumoinisn B₁ containing stable isotopes. *Journal of AOAC International*, Arlington, v.77, p.525-532, 1994.
- RHEEDER, J. P.; MARASAS, W. F. O.; THIEL, P. G.; SYDENHAM, E. W.; SHEPHARD, G. S.; van SCHALKWYCK, D. J. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology*, Saint Paul, v.82, p.353-357, 1992.
- RILEY, R. T.; AN, N-H.; SHOWKER, J. L.; YOO, H-S.; NORRED, W. P.; CHAMBERLAIN, W. J.; WANG, E.; MERRIL, A. H.; MOTELIN, G.; BEASLEY, V. R.; HASCHKE, V. M. Alteration of tissue and serum sphinganine to sphingosine ratio: an early biomarker of exposure to fumoinisn-containing feeds in pigs. *Toxicology and Applied Pharmacology*, San Diego, v.118, p.105-112, 1993.
- RILEY, R. T.; VOSS, K. A.; YOOL, H. S.; GELDERBLUM, W. C. A.; MERRILL, JR. A. H. Mechanism of fumoinisn toxicity and carcinogenesis. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.57, n.6, p.528-535, 1994.
- RITIENI, A.; MORETTI, A.; LOGRIECO, A.; BOTTALICO, A.; RANDAZZO, G.; MONTI, S. M.; FERRACANE, R.; FOGLIANO, V. Occurrence of fusaproliferin, fumoinisn B₁, and beauvericin in maize from Italy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, n.45, p.4011-4016, 1997.
- ROSS, P. F. What are we going to do with this dead horse? *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, Arlington, v.77, p.491-494, 1994.
- ROSS, P. F.; RICE, L. G.; PLATTNER, R. D.; OSWEILER, G. D.; WILSON, T. M.; OWENS, D. L.; NELSON, H. A.; RICHARD, J. L. Concentrations of fumoinisn B₁ in feeds associated with animal health problems. *Mycopathologia*, Den Haag, v.114, p.129-135, 1991.

- SALA, N.; SANCHIS, V.; VILARO, P.; VILADRICH, R.; TORRES, M.; VIÑAS, I.; CANELA, R. Fumonisin producing capacity of *Fusarium* strains isolated from cereals in Spain. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.57, n.10, p.915-917, 1994.
- SCOTT, P. M. Mycotoxins transmitted into beer from contaminated grains during brewing. *Journal of AOAC International*, Arlington, v.79, n.4, p.875-882, 1996.
- SCOTT, P. M.; LAWRENCE, G. A. Analysis of beer for fumonisins. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.58, n.12, p.1379-1382, 1995.
- SEO, J. A.; LEE, Y. W. Natural occurrence of the C series of fumonisins in moldy corn. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.65, n.3, p.1331-1334, 1999.
- SERNA-SALDIVAR, S. O.; ROONEY, L. W.; GREENE, L. W. Effect of lime treatment on the availability of calcium in diets of tortillas and beans: rat growth and balance studies. *Cereal Chemistry*, Saint Paul, v.68, p.565-570, 1991.
- SHELDON, J.L. A corn mold. In: ANNU. REP. AGRIC. EXP. STN. NEBR., 17., 1904, p.23-32
- SHEPHARD, G. S.; MARASAS, W. F. O.; LEGGOTT, N. L.; YAZDANPANA, H.; RAHIMI, H.; SAFAVI, N. Natural occurrence of fumonisins in corn from Iran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.48, p.1860-1864, 2000.
- SHEPHARD, G. S.; THIEL, P. G.; STOCKENSTROM, S.; SYDENHAM, E. W. Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn-based products. *Journal of AOAC International*, Arlington, v.79, n.3, p.671-687, 1996.
- SHETTY, P. H.; BHAT, R. V. Natural occurrence of fumonisin B₁ and its co-occurrence with aflatoxin B₁ in Indian sorghum, maize, and poultry feeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.45, p.2170-2173, 1997.
- SIAME, B. A.; MPUCHANE, S. F.; GASHE, B. A.; ALLOTEY, J.; TEFFERA, G. Occurrence of aflatoxins, fumonisin B₁, and zearalenone in foods and feeds in Botswana. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.61, n.12, p.1670-1673, 1998.
- SMITH, B. D. Documenting plant domestication: the consilience of biological and archaeological approaches. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v.98, n.4, p.1324-1326, 2001.
- STACK, M.E.; EPPLEY, R. M. Liquid chromatographic determination of fumonisins B₁ and B₂ in corn and corn-based products. *Journal of AOAC International*, Arlington, v.75, p.834-837, 1992.
- SYDENHAM, E. W.; SHEPHARD, G. S. Chromatographic and allied methods of analysis for selected mycotoxins. In: GILBERT, J. *Progress in food contaminant analysis*. London: Backie Academic & Professional, 1996. p.65-146.
- SYDENHAM, E. W.; SHEPHARD, G. S.; THIEL, P. G.; MARASAS, W. F. O.; RHEEDER, J. P.; SANHUEZA, C. E. P.; GONZÁLEZ, H. H. L.; RESNIK, S. L. Fumonisins in Argentinian field-trial corn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.41, p.891-895, 1993.
- SYDENHAM, E. W.; THIEL, P. G.; MARASAS, W. F. O.; SHEPHARD, G. S.; van SCHALKWYCK, D. J.; KOCH, K. R. Natural occurrence of some *Fusarium* mycotoxins in corn from low and high esophageal cancer prevalence areas of Transkei, Southern Africa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.38, p.1900-1903, 1990.
- SZABÓ, V. M.; BURR, B. Simple inheritance of key traits distinguishing maize and teosinte. *Molecular and General Genetics*, New York, v.252, p.33-41, 1996.
- THIEL, P. G.; MARASAS, W. F. O.; SYDENHAM, E. W.; SHEPHARD, G. S.; GELDERBLUM, W. C. A.; NIEUWENHUIS, J. J. Survey of fumonisin production by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.57, n.4, p.1089-1093, 1991.
- TOLLESON, W. H.; COUCH, L. H.; MELCHIOR, W. B.; JENKINS, G. R.; MUSKHELISHVILI, M.; MUSKHELISHVILI, L.; MCGARRITY, L. J.; DOMON, O.; MORRIS, S. M.; HORWARD, P. C. Fumonisin B₁ induces apoptosis in cultured human keratinocytes through sphinganine accumulation and ceramide depletion. *International Journal of Oncology*, Athens, v.14, n.5, p.833-843, 1999.
- TSENG, T. C.; LIU, C. Y. Natural occurrence of fumonisins B₁ and B₂ in domestic maize of Taiwan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.47, p.4799-4801, 1999.
- UENO, Y.; IJIMA, K.; WANG, S. D.; SUGIURA, Y.; SEKIJIMA, M.; TANAKA, T.; CHEN, C.; YU, S. Z. Fumonisins as a possible contributory risk factor for primary liver cancer: a 3-year study of corn harvested in Heimen, China, by HPLC and ELISA. *Food and Chemical Toxicology*, Elmsford, v.35, p.1143-1150, 1997.
- VISCONTI, A.; DOKO, M. B. Survey of fumonisin production by *Fusarium* isolated from cereals in Europe. *Journal of AOAC International*, Arlington, v.77, n.2, p.546-550, 1994.
- VOSS, K. A.; RILEY, R. T.; NORRED, W. P.; BACON, C. W.; MEREDITH, F.I.; HOWARD, P. C.; PLATTNER, R. D.; COLLINS, T. F. X.; HANSEN, D. K.; PORTER, J. K. An overview of rodent toxicities: liver and kidney effects of fumonisins and *Fusarium moniliforme*. *Environmental*

Health Perspectives, Research Triangle Park, v.109, suppl. 2, p.259-266, 2001.

VOSS, K. A.; STEPHEN, P. M.; MEREDITH, F. I.; BACON, C. W.; SAUNDERS, D. S. Fate of fumonisins during the production of fried tortilha chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.49, p.3120-3126, 2001.

WANG, R. L.; STEC, A.; HEY, J.; LUKENS, L.; DOEBLEY, J. The limits of selection during maize domestication. *Nature*, London, v.398, p.236-239, 1999.

WANG, E.; NORRED, W. P.; BACON, C. W.; RILEY, R. T.; MERRILL, JR. A. H. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins. *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v.266, n.22, p.14486-14490, 1991.

WATSON, S. A.; RAMSTAD, P. E. (Ed.). *Corn: chemistry and technology*. St. Paul: American Association of Cereal Chemist, 1987.

WEIBKING, T. S.; LEDOUX, D. R.; BERMUDEZ, A. J.; TURK, J. R.; ROTTINGHAUS, G. E.; WANG, E.; MERRILL, JR. A. H. Effects of feeding *Fusarium moniliforme* culture material, containing known levels of fumonisin B₁, on the young broiler chick. *Poultry Science*, Champaign, v.72, n.3, p.456-465, 1993.