

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**AMANDA SCHEMIN
DANIELE APARECIDA BATISTA DOS SANTOS**

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO PELA MICOTOXINA
DESOXINIVALENOL (DON) EM TRIGO DURANTE A SAFRA DE 2015
NO PARANÁ**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2016

**AMANDA SCHEMIN
DANIELE APARECIDA BATISTA DOS SANTOS**

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO PELA MICOTOXINA
DESOXINIVALENOL (DON) EM TRIGO DURANTE A SAFRA DE 2015
NO PARANÁ**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, do Departamento de Tecnologia em Alimentos – DAALM, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Msc. Luis Alberto Chavez Ayala

PONTA GROSSA

2016



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Ponta Grossa

Diretoria de Graduação e Educação Profissional



TERMO DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO PELA MICOTOXINA DESOXINIVALENOL (DON) EM TRIGO DURANTE A SAFRA DE 2015 NO PARANÁ

por

AMANDA SCHEMIN

DANIELE APARECIDA BATISTA DOS SANTOS

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 01 de dezembro de 2016 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. As candidatas foram arguidas pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^o. Msc. Luis Alberto Chavez Ayala
Prof. Orientador.

Prof^a Msc. Simone Bowles
Membro titular.

Mestranda Cláudia Walus Stocco
Membro titular.

- O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso -

Dedicamos este trabalho às nossas famílias, pelo apoio e incentivo durante nossa caminhada acadêmica.

Ao meu pai, Luiz Quirino Schemin (*in memoriam*): Pai, pelo senhor cheguei até aqui e é pelo senhor que seguirei em frente.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Bunge Alimentos – Moinho Ponta Grossa, por ceder espaço físico e materiais para a realização do trabalho, bem como o compartilhamento de conhecimentos técnico-científicos sobre o assunto abordado.

Ao nosso orientador Prof. Msc. Luis Alberto Chavez Ayala, pelo apoio com que nos conduziu nesta trajetória.

A professora Maria Helene G. Canteri, por sua grande ajuda.

Gostaríamos de deixar registrado também, o nosso reconhecimento às nossas famílias, por todo o apoio dado durante nossa trajetória.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

Que os vossos esforços desafiem as
impossibilidades, lembrai-vos de que as
grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível.
(CHAPLIN, Charles)

RESUMO

SCHEMIN & SANTOS, Amanda; Daniele Ap^a B. **Avaliação da contaminação pela micotoxina Desoxinivalenol (DON) em trigo durante a safra de 2015 no Paraná.** 2016. 34f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2016.

O trigo é o segundo cereal mais consumido no mundo, perdendo apenas para o milho, sendo uma cultura que tem uma contribuição expressiva na economia mundial. Trata-se de uma cultura de inverno, tendo sua colheita feita entre os meses de agosto a dezembro. Devido às condições climáticas, o solo e a cultivar, há a susceptibilidade da contaminação por fungos causando doenças como a Fusariose, ou Giberela, na qual o fungo produz a toxina Desoxinivalenol (DON) ou vomitoxina. Foram analisadas através do método ELISA, utilizando o Kit Veratox para vomitoxina, um total de 546 amostras de trigo provenientes de diversas cidades do estado do Paraná, sendo divididas em 3 regiões de Valor de Cultivo e Uso (VCU), sendo elas VCU I (fria, úmida, alta), VCU II (moderadamente quente, úmida, baixa) e VCU III (quente, moderadamente seca, baixa). As concentrações médias encontradas nos ensaios realizados foram de 976 µg/kg no VCU I, 318 µg/kg no VCU II e 193,17 µg/kg no VCU III, mostrando correlação com o clima presente em cada VCU.

Palavras-chave: Trigo. Giberela. Fusariose. Desoxinivalenol. Vomitoxina. VCU.

ABSTRACT

SCHEMIN & SANTOS, Amanda; Daniele Ap^a B. **EVALUATION OF CONTAMINATION BY MICOTOXIN DEOXYNIVALENOL (DON) IN WHEAT DURING THE HARVEST OF 2015 IN PARANÁ.** 2016. 34 p. Work of Conclusion Course (Graduation in Food Technology) - Federal Technology University - Paraná. Ponta Grossa, 2016.

Wheat is the second most consumed cereal in the world, losing only to corn, a culture that has a significant contribution to the world economy. It is a winter culture, having its harvest made between the months of August to December. Due to climatic conditions, soil and cultivar, susceptibility to fungal contamination causing diseases such as Fusariose, or Giberela, in which the fungus produced a toxin Deoxynivalenol (DON) or vomitoxin. A total of 546 wheat samples from the various cities of the State of Paraná were analyzed using the Veratox Kit for vomitoxin, and were divided into three regions of Value of Cultive and Use (VCU), being VCU I (Cold, humid, high), VCU II (moderately hot, humid, low) and VCU III (hot, moderately dry, low). The mean concentrations found were 976 µg / kg non-VCU I, 318 µg / kg Non-VCU II and 193.17 µg / kg non-VCU III, showing correlation with the state present in each VCU.

Keywords: Wheat. Giberela. Fusariose. Deoxynivalenol. Vomitoxin. VCU

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura química de tricotecenos tipo B.....	18
Gráfico 1 - Percentual de Amostras acima do Limite máximo tolerável pela legislação	26
Gráfico 2 - Nível de contaminação Desoxinivalenol – Valor de Cultivo e Uso I.....	27
Gráfico 3 - Precipitação mensal (2015) região Sul Paraná	28
Gráfico 4 - Nível de contaminação Desoxinivalenol – Valor de Cultivo e Uso II.....	29
Gráfico 5 - Nível de contaminação Desoxinivalenol – Valor de Cultivo e Uso III.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Limites para Desoxinivalenol de acordo com a atualização de 2014, vigente até o momento.....	21
Tabela 2- Limites para Desoxinivalenol de acordo com a atualização que entrará em vigor em 2017.....	21
Tabela 3 - Contaminação por DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) nas amostras de trigo do Paraná (2015)	25
Tabela 4 - Análise de variância ANOVA das amostras de trigo	25
Tabela 5 - Distribuição das Amostras analisadas por região	26

LISTA DE SIGLAS LISTA DE ABREVIATURAS

a.C.	Antes de Cristo
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
AW	Atividade de água
CEPTEC	Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DERAL	Departamento de Economia Rural
DON	Desoxinivalenol
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (imunoensaio enzimático)
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INPE	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais.
LMT	Limite máximo tolerável
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SAS	Statistical Analyses System
SEAB	Secretaria de Agricultura e Abastecimento
TCT	Tricotecenos
TDI	Tolerable daily intake (Ingestão Diária Tolerável)
VCU	Valor de Cultivo e Uso

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1 A CULTURA DO TRIGO	14
2.2 MICOTOXINAS.....	16
2.3 DESOXINEVLENOL (DON)	17
2.4 LEGISLAÇÃO SOBRE MICOTOXINAS.....	20
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	22
3.2 EQUIPAMENTOS, REAGENTES E MATERIAIS	23
3.3 PROCEDIMENTOS	23
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
5 CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) ocupa 30 % da área mundial cultivada com cereais, com produção anual aproximada de 500 milhões de toneladas (EMBRAPA, 2010). Apesar da ocorrência de geadas e chuvas no sul do Brasil ter gerado perdas na produção de trigo no ano de 2015 devido a condição climática de temperaturas mais amenas, responde por 94,6% da produção nacional de trigo. Porém as suas características do sistema de cultivo fazem com que o rendimento médio de grãos nessa região não seja a mais alta do país (EMBRAPA, 2013).

O trigo pode ser contaminado na lavoura por doenças devido às condições climáticas, tipo de solo, tipo de cultura e susceptibilidade da mesma. Uma das doenças é a Fusariose ou também conhecida como Giberela, é causada por fungos do gênero *Fusarium*, principalmente *F. graminearum*, *F. culmorum* e *F. avenaceum*. É considerada uma doença de difícil controle e sua ocorrência é altamente influenciada pelo ambiente. Esta enfermidade além de danificar a plantação, o fungo causador da mesma pode desenvolver substâncias tóxicas chamadas de micotoxinas (CALORI et al., 2007).

Pode-se destacar entre as micotoxinas o desoxinivalenol (DON ou vomitoxina). A exposição a níveis elevados de DON pode acarretar vômito, perda de peso, dores abdominais, diarreia, imunossupressão, portanto é uma preocupação crescente. A Resolução RDC nº7 de fevereiro de 2011 definiu os limites máximos, tanto para os cereais *in natura* quanto para seus produtos. Sendo assim tanto o trigo quanto à farinha proveniente deste, devem ser monitorados e atender a legislação vigente. O controle para os subprodutos pode ser explicado pela alta estabilidade apresentada pelo DON, sendo resistente à temperaturas de até 180°C. O DON não é volátil, e somente pode ser desativado sob condições drásticas ácidas ou alcalinas, em presença de hidretos de alumínio, lítio ou peróxidos (GARDA e FURLONG, 2008)

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar a presença da micotoxina desoxinivalenol (DON) em amostras de trigo da safra de 2015 no Paraná e tem como objetivos específicos: avaliar a correlação da concentração da micotoxina com o clima correspondente; verificar o atendimento à legislação vigente para a presença da micotoxina desoxinivalenol e buscar propostas para as soluções que acarretem a diminuição do DON em trigo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A CULTURA DO TRIGO

O trigo (*Triticum aestivum* L.), monocotiledônea pertencente à família *Poaceae* (Gramíneas), foi um dos primeiros cereais utilizados no consumo humano. Originou-se do cruzamento plantas silvestres que existiam nas proximidades dos rios Tigre e Eufrates na região ocidental da Ásia. A domesticação ocorreu em lavouras no sudeste asiático e foi introduzido na Índia, China e Europa desde 5.000 a.C. (EMBRAPA, 2001). O trigo destaca-se entre os cereais de maior cultivo mundial e importância na alimentação humana. É o segundo cereal mais produzido no mundo, tendo peso significativo na economia agrícola global (BRASIL, 2012).

No Paraná, o plantio é realizado entre os meses de março a julho e a colheita tem início em agosto e se estende até dezembro. A produção anual dos últimos anos foi de 3,8 milhões de toneladas em 2014, 3,3 em 2015 e estimativa de 3,5 toneladas para 2016 segundo os dados do Departamento de Economia Rural (DERAL), vinculado à Secretaria de Agricultura do Paraná (SEAB, 2015).

A produção brasileira vem sendo prejudicada pelas condições climáticas desfavoráveis. Geadas e chuvas na época da colheita tem reduzido as produtividades médias, das últimas safras. O último recorde de produtividade média foi atingido em 2010, quando mais de 2.700 kg/ha foram registrados. Em 2014 o principal problema enfrentado foi a chuva na época da colheita, que compromete não só a produtividade, mas também a qualidade do cereal (SEAB, 2014). Segundo dados divulgados Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2015 a produção de trigo teve a segunda queda consecutiva, com safra 13,4% menor do que o ano anterior, com 5,4 milhões de toneladas. O excesso de chuvas na fase final do ciclo da região Sul do país que responde a 89,8% da produção total prejudicou a qualidade do cereal e também atrapalhou a colheita (IBGE, 2016).

No entanto, a corrente a produção nacional tem sido incapaz de suprir a necessidade anual de 10 milhões de toneladas de grãos de trigo. Por esta razão, o Brasil importa para atender à demanda doméstica (CONAB, 2013). No ano passado, o Brasil importou cerca de 5,7 milhões de toneladas de grãos de trigo, sendo que

67% veio da Argentina, tradicionalmente o maior fornecedor para o Brasil. Em janeiro de 2016, o Uruguai forneceu 21% das importações do Brasil, e o Paraguai, 11% (CONAB, 2016).

Em janeiro de 2016 somaram 525,5 mil toneladas, contra 507,5 mil toneladas no mesmo período do ano passado e praticamente o mesmo volume importado em dezembro/2015 (506 mil toneladas), segundo dados do ministério da Agricultura.

Na produção, as doenças se apresentam como fator limitante para o cultivo de trigo no Brasil, destacando-se a fusariose ou giberela, que ocorrem frequentemente devido as condições climáticas, às práticas culturais e à susceptibilidade dos cultivares. É causada por fungos do gênero, *Fusarium*, mais comumente por *F. graminearum*, *F. culmorum* e *F. avenaceum*. Ocorre em todo o mundo sendo mais frequente em áreas úmidas e temperadas (CALORI-DOMINGUES et al., 2007). Esta doença já foi responsável por grandes epidemias nos EUA, Canadá, Europa, Rússia, Argentina e regiões brasileiras tradicionais de cultivo, nos últimos anos tornou-se a principal doença nas regiões tritícolas onde o clima é úmido, quente e com níveis elevados de precipitação no estágio de floração do trigo (ALMEIDA, 2006).

A fusariose é altamente dependente das condições climáticas durante o espigamento da planta, sendo a fase mais crítica a floração, podendo se estender até o início da maturação do grão (CALORI-DOMINGUES et al., 2007).

Durante o florescimento, o fungo penetra facilmente no ovário e entre as células da planta, sem resistência e tomando conta do grão. Períodos de exposição e umidade continua acima de 70% e temperaturas elevadas favorecem a infecção por *Fusarium* durante o período de floração (ALMEIDA,2006).

Em cereais de inverno como o trigo, os sintomas da doença podem ser identificados através da coloração rosa-salmão das espiguetas , que podem morrer antes de se tornarem grãos. Além disso nos grãos de trigo ocorrem uma menor proporção de gluteninas (proteínas de reserva), fator determinante na qualidade tecnológica deste cereal (PANDOLFI, 2006).

Ainda não se conhece uma forma eficaz de acabar com a fusariose. As técnicas de controle mais comuns tem sido baseadas em rotações de cultura, que embora recomendado não é considerada eficiente já que o fungo sobrevive nas sementes e nos restos da cultura de muitos hospedeiros, na aplicação de fungicidas

onde a eficiência no controle de desenvolvimento do fungo é baixa e além disso resulta em problema que é o acúmulo de resíduos químicos nos grãos após colheita. Apesar disso o que vem trazendo melhores resultados no controle da doença é o desenvolvimento de cultivares resistente, porém as fontes de resistência genética conhecidas limitadas e a incorporação de gene de resistência é uma tarefa árdua (DEL PONTE et al., 2004; PANDOLFI, 2006).

2.2 MICOTOXINAS

Além dos danos diretos a cultura e conseqüentemente os impactos no rendimento da produção, os grãos infectados por fungos podem apresentar contaminação com micotoxinas. Essas são metabólitos secundários produzidos pelos fungos filamentosos sendo tóxicas tanto para o homem como para os animais causando quadros de intoxicação. A ingestão regular de pequenas quantidades de micotoxinas por longos períodos pode acumular no organismo e levar a formação de tumores e aparecimento de doenças crônicas (PEREIRA, 2008).

A produção de micotoxinas depende do crescimento do fungo podendo ocorrer em qualquer época do cultivo, colheita ou estocagem e até mesmo depois que o fungo não estiver mais presente (ALMEIDA, 2006). Por outro lado, a intensidade dos fungos é altamente dependente das condições climáticas, por esse motivo as epidemias acabam variando de uma safra para outra.

A infestação ocorre geralmente em áreas de clima temperado e úmido, e é muito destrutiva em primaveras quentes e úmidas. As perdas podem alcançar entre 10% e 30% em ataques moderados e chegar até 80% em cultivares susceptíveis em casos severos. A contaminação por tricotecenos afeta a qualidade comercial e industrial do grão (RESNIK; GONZÁLEZ; PACIN, 2008)

Além dos fatores climáticos, substrato, espécie ou linhagem de *Fusarium*, temperatura e atividade de água estão diretamente ligados as condições ótimas para a produção de micotoxina e a sobrevivência do patógeno. Nos estudos citados por Almeida (2006) temperaturas entre 25 e 28°C e atividade de água (AW) de 0,97 foram identificadas como as melhores condições para a produção de micotoxinas.

O controle de micotoxinas é um dos principais problemas para as indústrias agroalimentares e medidas preventivas como o programa APPCC (Análise de

Perigos e Pontos Críticos de Controle) vem se destacando no controle dessas (MASSON; CECATTO, 2012).

Existem muitas formas de prevenção, mas elas se agrupam em duas grandes áreas: por uma parte, todo o manejo que possa ser realizada do campo até o consumo, para evitar e/ou minimizar a contaminação, e por outra parte, a avaliação de risco à exposição. A primeira forma implica desde o desenvolvimento e/ou identificação de híbridos e cultivares resistentes ou não a infecção fúngica, a limpeza de grãos, controle de armazenamento e processos tecnológicos que se submete a matéria prima, já a segunda se baseia na proposta de medidas de prevenção que envolve o Índice de ingestão diária tolerável (ITD) (RESNIK; GONZÁLEZ; PACIN, 2008).

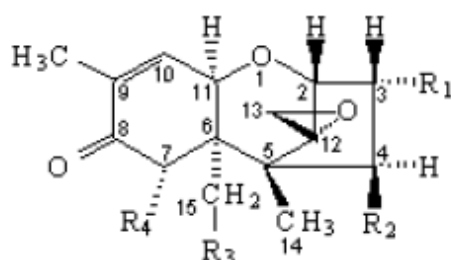
Atenção especial deve ser direcionada ao melhoramento genético, seja quanto à produtividade, qualidade nutricional ou adaptação de cultivares a regiões subtropicais, fato este que acarretaria inserção de novos substratos ao nicho ecológico (HIROOKA et al., 2008)

2.3 DESOXINEVLENOL (DON)

Existem mais de 110 compostos incluídos atualmente no grupo das micotoxinas, denominados tricotecenos. Como contaminantes naturais de cereais, se destacam os tricotecenos não macrocíclicos, produzidos por espécies do gênero *Fusarium* (RESNIK; GONZÁLEZ; PACIN, 2008).

Os tricotecenos (TCT) são micotoxinas de grande importância para a saúde humana e animal. Quimicamente se dividem três grandes grupos com características físico-químicas e toxicológicas diferentes: não macrocíclicos tipo A, não macrocíclicos tipo B e macrocíclicos. Os TCT tipo B se caracterizam por apresentar carbonila no Carbono 8, ausente no tipo A. Os macrocíclicos contam com um anel entre o Carbono 4 e o Carbono 15 (DIAZ, 2008).

Figura 1 - Estrutura química de tricotecenos tipo B



Deoxynivalenol ($R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{OH}$); nivalenol ($R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{OH}$, $R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{OH}$); 3-acetyldeoxynivalenol ($R_1 = \text{OAc}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{OH}$); 15-acetyldeoxynivalenol ($R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{OAc}$, $R_4 = \text{OH}$); and fusarenon X ($R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{OAc}$, $R_3 = \text{OH}$, $R_4 = \text{OH}$)

O Desoxinivalenol (DON) representado quimicamente na figura 1 é o tricoteceno mais importante atualmente e considerado a micotoxina de maior relevância em termos de exposição humana. Isto levou ao desenvolvimento de vários testes comerciais para a determinação quantitativa e qualitativa de DON, como por exemplos as provas baseadas em purificação mediante coluna de imunoafinidade, com derivação de um reagente específico e posterior determinação fluorimétrica. Também existem testes de Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) competitivo e ELISA em membrana, disponível comercialmente (DIAZ, 2008)

A ocorrência de DON é associada principalmente com *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*) e *F. culmorum*. Esta micotoxina tem sido implicado na incidência de micotoxicoses em humanos e em animais de criação. O DON foi primeiramente isolado no Japão e Estados Unidos, oriundos de cevada e milho infectados no campo, com *F. graminearum*. O nome alternativo vomitoxina refere-se à sua propriedade de causa vômitos, recusa de alimentos, associado a perda de peso, e que são os efeitos adicionais produzidos por DON em suínos. É o tricoteceno que ocorre com maior frequência e mais estudado por este motivo (LAMARDO; NAVAS; SABINO, 2006; FREIRE et al., 2007).

A ingestão de DON ocasiona efeitos locais como consequência da irritação das mucosas gastrointestinais, encarregada de regular a imunoglobulina A, podendo ser uma das causas de glomerulonefrite, uma das nefropatias mais comuns do

mundo, e efeitos sistêmicos devido a grande inibição da biosíntese protéica, que se expressa principalmente nos tecidos de baixo retil celular, como uma potente inibição da peptiltransferase, que impede a incorporação de aminoácidos do começo ao fim da cadeia proteica; ação sobre o metabolismo das aminas biogênicas do cérebro, devido a inibição da síntese da monoaminooxidase, ocasionando diversos transtornos neurológicos (RESNIK; GONZÁLEZ; PACIN, 2008; PESTKA, 2010)

Os sintomas podem se desenvolver após 5 a 30 minutos da exposição a micotoxina e são de difícil distinção das condições gastrointestinais atribuídas a microrganismos como toxinas de *Bacillus cereus* (LAMARDO, NAVAS & SABINO, 2006)

A estimacão da exposicão de DON à populacão implica em associar a presença desta micotoxina em grãos e alimentos processados, com a ingestão de alimentos contaminados pela mesma. A contaminação dos grãos varia amplamente, pois as micotoxinas não se distribuem de maneira uniforme nos grãos, o que implica em uma grande variabilidade nos níveis de contaminação final de DON (RESNIK; GONZÁLEZ; PACIN, 2008)

Os tricotecenos geralmente têm muito pouca absorção no espectro ultravioleta ou visível e não fluorescente, de modo que a determinação por métodos cromatográficos ou fluorométricos geralmente requerem a derivação dos analitos (DIAZ, 2008)

Depois da colheita assim como outras micotoxinas, o DON pode ser produzido e permanecer no grão e dependendo das condições de armazenamento o nível pode até aumentar. Essa toxina tem a capacidade de se manter ativa mesmo depois do processamento do grão podendo ser encontrado em Paes, farinha, biscoito, cereais matinais, massas e alimentos para bebês (CREPPY, 2002).

A contaminação com DON ocorre de modo geral em todas as frações do processo de moagem do trigo, o farelo e o farelinho (“shorts”) apresentam níveis maiores de contaminação do que no grão e a farinha apresenta menor nível de contaminação, isto está relacionado ao grau de penetração fúngica no endosperma. Quanto mais baixa a penetração maior a infecção e concentraçao de DON na superfície do grão e mais baixa na farinha produzida (ALMEIDA, 2006).

2.4 LEGISLAÇÃO SOBRE MICOTOXINAS

Sabendo que as micotoxinas podem causar problemas a saúde humana e também dos animais, muitos países estabeleceram regulamentos para esses contaminantes. Segundo Sabino (1989) existem duas razões que justificam o estabelecimento de limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas: proteger a saúde do consumidor e animal e as perdas econômicas respectivamente.

Apenas alguns países possuem legislação referente aos limites aceitáveis de DON em alimentos, variando de 500 a 2000 µg/kg. O limite máximo estabelecido pela Comunidade Europeia através do Regulamento nº 1881 de 2006 (EUROPAN COMMUNITIES, 2006) em cereais não processados é de 1250 µg/kg, 750 µg/kg nas farinhas de cereais, 500 µg/kg para pães, produtos de pastelaria, bolachas, refeições leve à base de cereais e cereais para massas alimentícias e apenas 200 µg/kg nos alimentos destinados a lactentes e crianças.

O limite máximo da micotoxina Desoxinivalenol permitido nos Estados Unidos é de 1000 µg/kg em produtos como farinha, farelo e germe de trigo. Outros países que também possuem limites já estabelecidos para DON como, por exemplo, o Canadá com 2.000 µg/kg para grãos de trigo, Rússia com limite de 1000 µg/kg para a farinha e farelo e a Áustria com o limite de 500 µg/kg para o trigo comum e 750 µg/kg para o durum (CAST, 2003)

No Brasil a legislação para os limites permitidos de DON é relativamente recente, foram definidos a partir de 2012 e decrescendo nos anos subsequentes. É controlada pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), através da Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011, que estabelece limites máximos tolerados (LMT) para aflatoxinas (B1, B2, G1, G2 e M1), Ocratoxina A, Patulina, Fumonisinias (B1 e B2) e zearalenona além do Desoxinivalenol (DON). Algumas dessas toxinas foram escalonadas para aplicação em janeiro de 2014 e janeiro de 2016. Entretanto de acordo com a Resolução-RDC nº 59 de 2013, os prazos foram prorrogados até 1º de janeiro de 2017, para adequação do setor produtivo; para DON em trigo e derivados:

Anvisa prorrogou até 1 de janeiro de 2017 o prazo para adequação aos limites máximos tolerados (LMTs) para micotoxina desoxinivalenol (DON) no trigo e outros grãos. A decisão atende ao pedido da Câmara Setorial das Culturas de Inverno, que, em outubro, solicitou maior prazo. Dessa forma, o setor terá mais tempo para rediscutir os níveis a serem implementados no país, de acordo com as especificidades da produção nacional. A nova resolução (59/2013), publicada no Diário Oficial da União em 30 de dezembro de 2013, altera a anterior (7/2011), que estabelecia prazo até 1 de janeiro de 2014 para entrada em vigor dos novos parâmetros. Portanto, ficam valendo os LMTs desde janeiro de 2011 (ALFONSIN, 2014)

Foi definido a partir de 2002 na legislação brasileira o limite máximo tolerável (LMT) de DON (desoxinivalenol) para cereais destinados à alimentação 2000 µg/kg. Adicionalmente, para 2012, foi determinado o limite máximo de 2000 µg/kg para trigo integral e 1750 µg/kg para farinha de trigo; posteriormente, em 2016, estes limites máximos serão reduzidos para 1000 µg/kg e 750 µg/kg, respectivamente (BELLUCO, 2014).

As Tabelas 1 e 2 apresentam os limites vigentes e os novos parâmetros que passam a valer a partir de janeiro de 2017:

Tabela 1- Limites para Desoxinivalenol de acordo com a atualização de 2014, vigente até o momento

Micotoxina	Alimento	LMT (µg/kg)
Desoxinivalenol	Trigo Integral (grão)	1500
	Farinha de trigo e seus produtos	1250

Fonte: BRASIL. Resolução nº7, de 18 de fevereiro de 2011.

Tabela 2- Limites para Desoxinivalenol de acordo com a atualização que entrará em vigor em 2017

Micotoxina	Alimento	LMT (µg/kg)
Desoxinivalenol	Trigo Integral (grão)	1000 µg/kg
	Farinha de trigo e seus produtos	750 µg/kg

Fonte: BRASIL. Resolução nº7, de 18 de fevereiro de 2011.

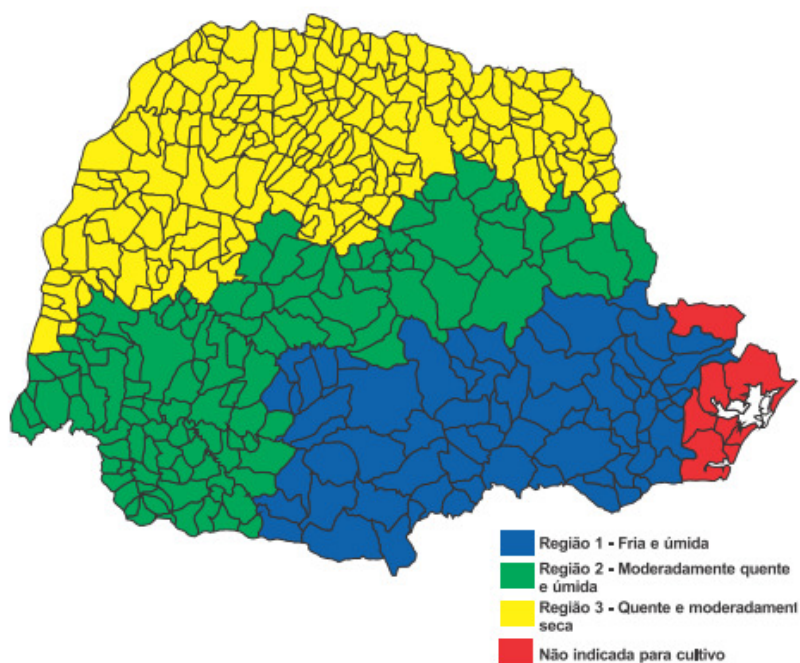
3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos para obtenção das amostras, processamento e determinação dos níveis de Desoxivalenol em trigo da safra de 2015 no Paraná encontram-se descritas a seguir:

3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras utilizadas foram cedidas pelo Moinho de trigo de empresa da cidade de Ponta Grossa, proveniente de diversas cidades do estado do Paraná, sendo divididas em 5 regiões (norte, sul, oeste, centro oeste e sudoeste) e regiões de Valor de Cultivo e Uso (VCU) conforme a Figura 2. No Paraná são encontradas as regiões de VCU I (fria, úmida, alta), VCU II (moderadamente quente, úmida, baixa) e VCU III (quente, moderadamente seca, baixa).

Figura 2 - Regiões para adaptação para trigo no Paraná



Fonte: EMBRAPA, 2016

Totalizaram-se 546 amostras recebidas, entre os meses de agosto de 2015 a dezembro de 2015.

3.2 EQUIPAMENTOS, REAGENTES E MATERIAIS

Micropipeta multicanais, 50 -200 μ L; copos descartáveis com tampa 250mL; balança semi-analítica; Leitora ELISA; proveta 250mL; recipiente para os reagentes NEOGEN; moinho (Laboratory Mill 3100 – Fabricante: Perten); cronômetro, água destilada; Kit Veratox para Vomotoxina (composto por: 48 micropoços revestidos com anticorpo; 48 micropoços vermelhos para mistura; 05 frascos contendo 1,5 ml de cada controle (amarelo) com concentrações de 0, 25, 50, 100 e 250 μ g/kg; 01 frasco contendo 7 ml da solução conjugada; 01 frasco contendo 24 ml da solução de substrato e 01 frasco contendo 32 ml da solução STOP).

3.3 PROCEDIMENTOS

Os procedimentos foram realizados no Laboratório do Trigo, da empresa Bunge S.A., no período de agosto a dezembro de 2015.

As amostras foram moídas e homogeneizadas, moeu-se aproximadamente 300g de amostra que foram pesadas e diluídas em água destilada e transferidas para o micropoços vermelhos de mistura do Kit, precedidas pelas 5 soluções padrão. Em seguida, foi adicionada a solução do substrato, homogeneizou-se e transferiu-se para os micropoços transparentes que contém o anticorpo para DON. Após o tempo de reação desta etapa do teste (10 minutos), os micropoços foram lavados com pissete de água destilada e secados sendo batidos em papel absorvente, para posterior adição da solução conjugada. Após o tempo de reação (10 minutos) da solução conjugada, adicionou-se a solução de parada da reação e iniciou-se a leitura no leitor ELISA.

O procedimento analítico seguiu as instruções do fabricante do Kit Veratox para Vomitoxina DON HS O método é validado pela Association of Official Agricultural Chemists (AOAC, 2009).

A leitura dos resultados dados pelo ELISA, foi multiplicada por 4, pois a amostra de diluição padrão (50mL) foi dissolvida por mais 200mL, totalizando o 250 mL.

$$DON(\mu g/kg) = leitura \times diluição$$

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a estratificação das dosagens detectadas da micotoxina foram elaborados histogramas com os intervalos de classes e a frequência relativa da contaminação de DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) de acordo com os resultados definidos por VCU.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com nível superior p corrigido. O software utilizado foi o SAS (STATISTICAL ANALYSES SYESTEM) (CANTERI et al, 2001).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados médios das análises estão apresentados na Tabela 3, na qual se pode verificar os valores médios, mínimos e máximos da contaminação de DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) de cada VCU.

Tabela 3 - Contaminação por DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) nas amostras de trigo do Paraná (2015)

Tratamento	Repetições	Média	Tukey	Min	Max
Trat. 01 "VCU I"	107	976,628	a	<i>N.D*</i>	4240
Trat. 02 "VCU II"	242	318,0248	b	<i>N.D*</i>	3294,8
Trat. 03 "VCU III"	197	193,172	c	<i>N.D*</i>	1705,2
C.V.		113,46%			

**N.D: Não Detectável*

As amostras provenientes do VCU I apresentam valor médio maior de contaminação por DON em relação aos outros dois VCU's, sendo que o valor mínimo foi não detectável assim como nos demais, e o máximo foi de 4240 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o que pode ser traduzido em 183% acima do Limite máximo permitido na legislação vigente até o momento que é de 1500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ e 324% acima dos novos parâmetros que passam a valer a partir de 2017 (1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$), isso pode estar relacionado a fatores ambientais já que a região é caracterizada como fria, e úmida interferindo no desenvolvimento do microrganismo.

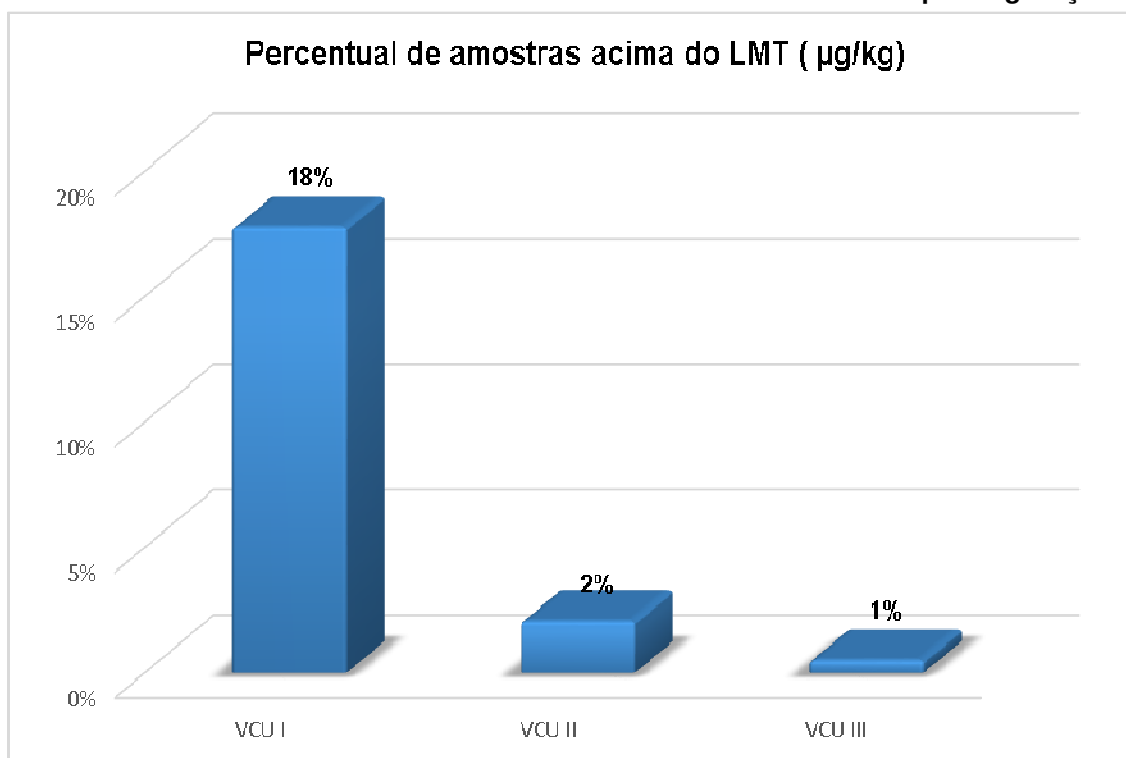
Houve diferença significativa nos níveis de DON entre os três VCU's isso o que pode ser confirmado através do resultado da análise de variância ANOVA (Tabela 4) rejeitando-se a hipótese de que todas as médias populacionais são iguais, isto é, pelo menos um dos grupos de tratamento (VCU's) difere-se dos demais.

Tabela 4 - Análise de variância ANOVA das amostras de trigo

Fonte da variação	SQ	GI	MQ	F	F crítico
Entre grupos	45628697,30	2,00	22814348,65	109,65	3,01
Dentro dos grupos	112981126,15	543,00	208068,37		
Total	158609823,45	545,00			

Do total de amostras, apenas 6% (35 amostras) não apresentaram contaminação por DON, sendo 2% (2 amostras) do VCU1, 9% (22 amostras) do VCU II e 6% (11 amostras) do III. Por outro lado, 5% do total de amostras (25) apresentaram resultados acima do permitido pela legislação brasileira sendo que 18% das amostras encontram-se no VCU I conforme Gráfico 1:

Gráfico 1 - Percentual de Amostras acima do Limite máximo tolerável pela legislação



Na Tabela 5 é possível verificar a distribuição das amostras nos VCU's por regiões (norte, sul, centro oeste, oeste e sudoeste):

Tabela 5 - Distribuição das Amostras analisadas por região

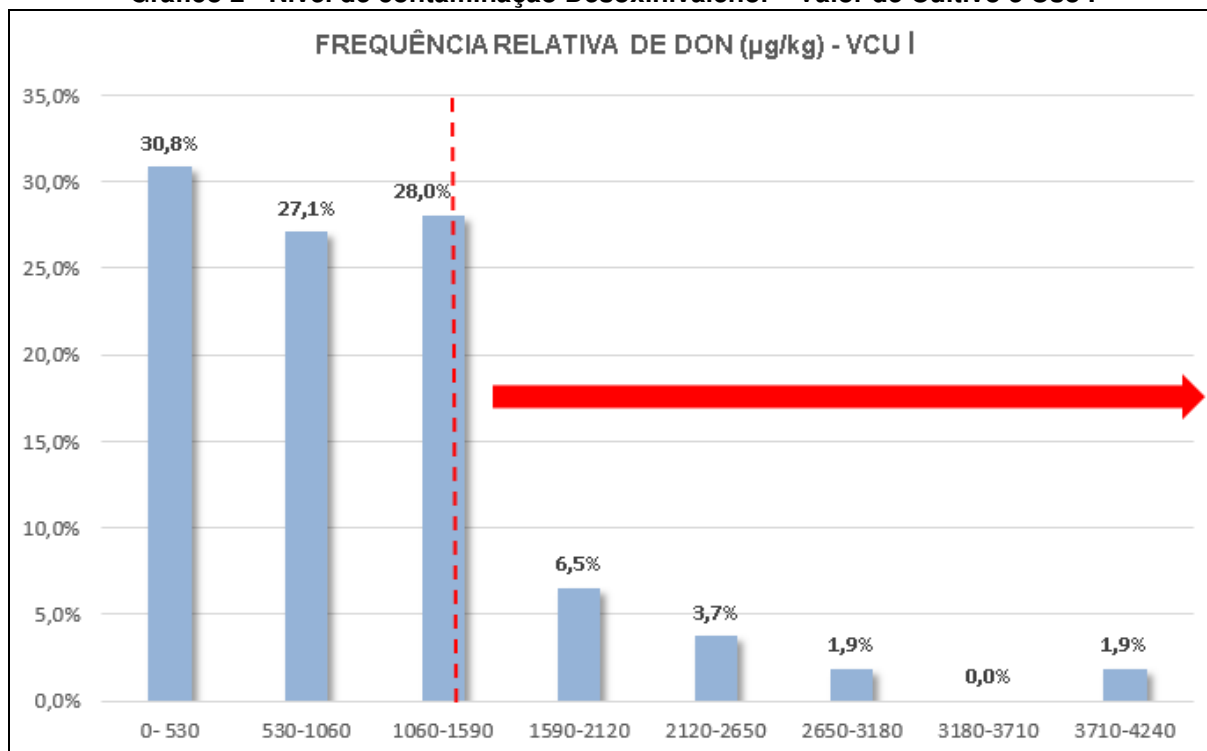
Região	VCU I	VCU II	VCU III	Total
CENTRO OESTE		47	1	48
NORTE		10	195	205
OESTE		40	1	41
SUDOESTE		52		52
SUL	107	93		200
Total	107	242	197	546

Esses resultados diferem-se dos encontrados no estudo de Rodrigues e Pinto (2013), onde todas as amostras encontravam-se entre os limites aceitáveis

pela legislação brasileira vigente. Um dos motivos relacionados foi o comportamento da atmosfera paranaense nos meses de outubro, novembro e dezembro, onde as chuvas ficaram acima da média, principalmente entre os setores Sudoeste, Oeste, Sul, Central e Sudeste e as temperaturas também elevadas durante a primavera (SIMEPAR, 2015).

O gráfico 2 demonstra os níveis de contaminação da micotoxina nas amostras recebidas do VCU I que são provenientes 100% da Região Sul do Estado. Pode-se observar que praticamente metade (46 %) das amostras do VCU I estão com os níveis de DON acima de 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ considerado um nível alto de contaminação. É válido ressaltar que 18% (19 amostras) apresentaram níveis de contaminação entre 1500 a 4240 ($\mu\text{g}/\text{kg}$), ou seja acima do limite permitido pela legislação considerando a vigência atual. A região desse VCU caracteriza-se por ser fria, úmida e alta. Segundo o relatório de precipitação pluviométrica regional da SEAB (Secretaria de Estado da Agricultura e Abastecimento) a média de precipitação no último trimestre de 2015 nessa região foi de 218 mm (SEAB, 2015).

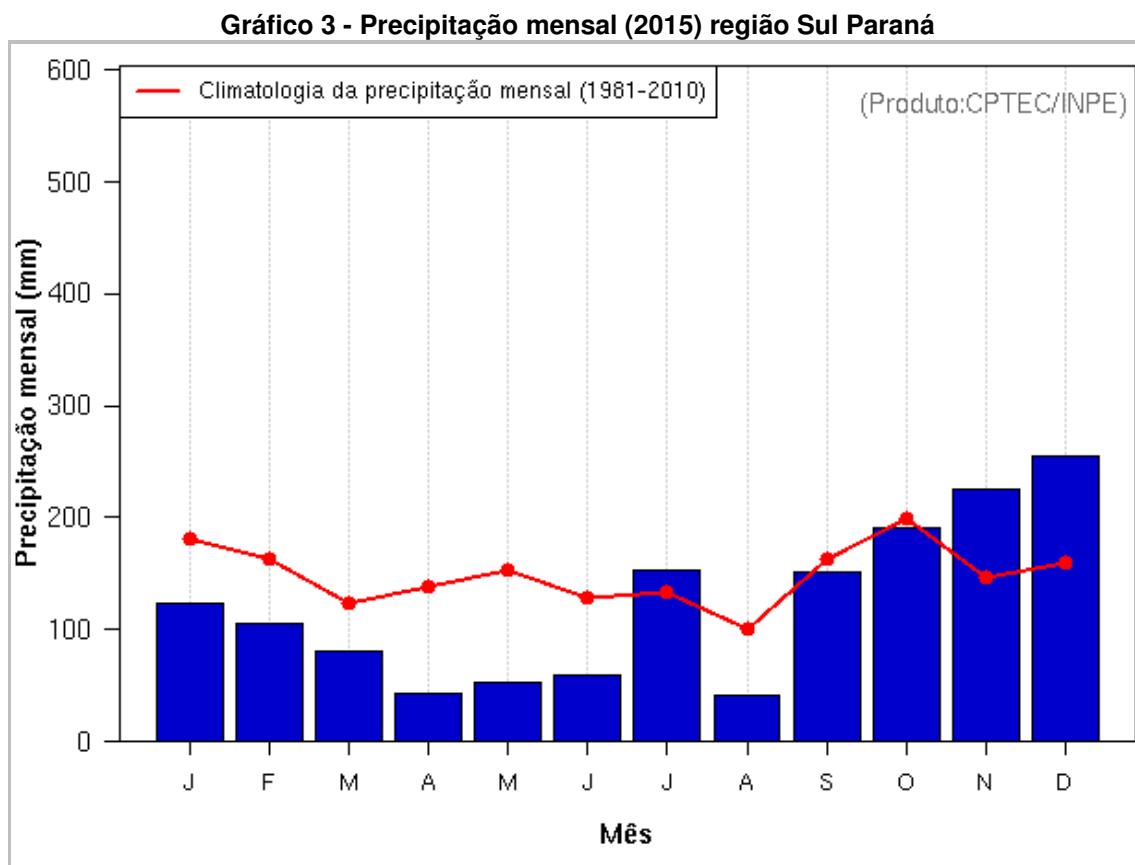
Gráfico 2 - Nível de contaminação Desoxinivalenol – Valor de Cultivo e Uso I



No Gráfico 3 é possível observar a precipitação mensal durante o ano de 2015, sendo maior no último trimestre do ano e apresentando aumento significativo

em relação à média mensal do mesmo período dos anos 1981 a 2010. Ainda conforme mencionado no boletim SEAB- Deral de 8 de Dezembro de 2015

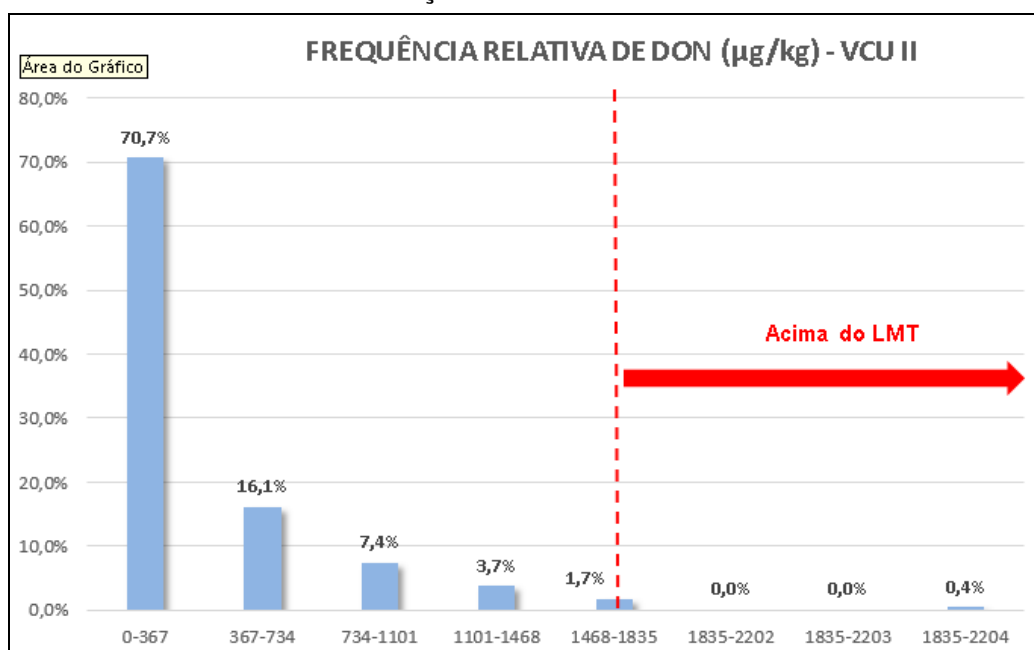
Em termos regionais observa-se que tivemos neste ano uma boa qualidade dos trigais colhidos em setembro, coincidindo com as colheitas do Centro-Oeste, Oeste e parte do Norte do Estado. Já no Sudoeste e no Norte Pioneiro a qualidade ficou próxima a obtida no ano anterior, enquanto no Sul os índices pioraram em função do grande volume de chuvas registrados entre outubro e novembro (SEAB, 2015)



Fonte: CPTEC/INPE

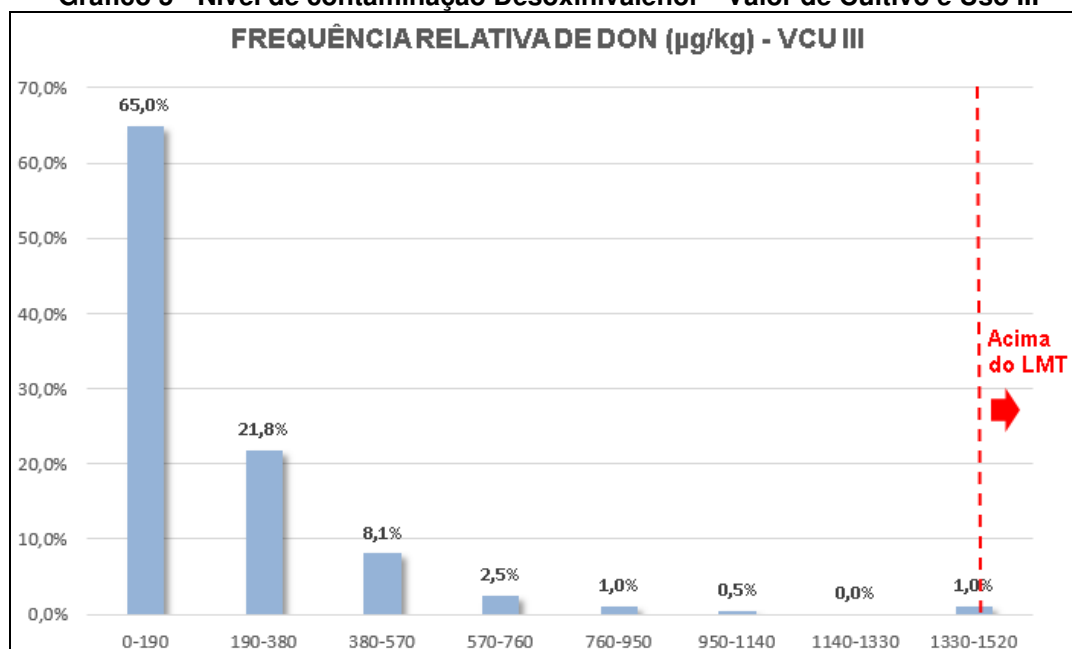
No VCU II (Gráfico 4), 2% das amostras encontram-se acima do permitido pela legislação. Cerca de 70% apresentaram baixos níveis de DON. Este VCU encontra-se bem distribuído entre as regiões paranaenses: 38% na região Sul, 21 na região Sudoeste, 19% na região Centro Oeste, 17% na região Oeste e 4% na região Norte, por esse motivo não é possível relacionar os resultados deste grupo com as condições climáticas do período.

Gráfico 4 - Nível de contaminação Desoxinivalenol – Valor de Cultivo e Uso II



A frequência relativa de DON no VCU III está apresentada no Gráfico 5. Deste VCU 99% é proveniente da região Norte do Paraná. Apenas 1% das amostras desse VCU encontra-se acima da legislação.

Gráfico 5 - Nível de contaminação Desoxinivalenol – Valor de Cultivo e Uso III



Santos e colaboradores (2011) monitoraram o nível de ingestão de DON por trigo, no estado do Paraná e Rio Grande do Sul das safras de 2006, 2007 e 2008.

Para o estado do Paraná, onde foram avaliadas as regiões Norte e Sudoeste, detectou-se a contaminação do trigo por DON em 95,2% das amostras de trigo estavam entre Não Detectável e 500 µg/kg. Já Calori Domingues e colaboradores (2007) avaliaram a qualidade dos grãos utilizados no Brasil, em grãos nacionais e importados. Dentre as amostras estudadas, 64% do trigo nacional eram provenientes do estado do Paraná. Deste universo, verificou-se que 10% das amostras encontravam-se com níveis de contaminação acima de 500 µg/kg. Duas delas eram provenientes do Paraná, as quais apresentaram níveis de 3.327 e 4.573 µg/kg, indicando que podem existir regiões dentro desse Estado com condições climáticas ou de manejo da cultura que propiciem o desenvolvimento fúngico com consequente produção da toxina.

5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir com a realização deste estudo que houve diferença significativa nos níveis de Desoxinivalenol entre as três regiões de Valor de Cultivo e Uso. Em uma população de 576 amostras estudadas, 5% delas encontravam-se acima dos limites aceitáveis pela legislação brasileira vigente RDC nº 7 que é de 1500 µg/kg. O VCU III composto por 99% de municípios do norte do Estado apresentou os níveis mais baixos de contaminação e a região de Valor de Cultivo e Uso I representado pela região Sul, apresentou os níveis mais elevados. As variáveis climáticas das regiões poderiam ter sido fatores que expliquem estes níveis de contaminações. No entanto outros fatores antes e durante o período do plantio, do desenvolvimento, da colheita e do armazenamento dos grãos podem estar associados aos resultados encontrados. As ações como uma colheita adequada, secagem correta e o acompanhamento do armazenamento podem contribuir para baixar os índices de contaminação. A partir de janeiro de 2017 entrará em vigor o Limite máximo de 1000 µg/kg de DON para grãos de trigo, o que pode ser um sinal de problema aos produtores do setor que não se adequarem. Sugere-se que algumas regiões terão maiores dificuldades de adaptações.

REFERÊNCIAS

ALFOSIN, R. **Anvisa prorroga adequação do trigo, 2014**. Disponível em: <<http://alfosin.com.br/anvisa-prorroga-adequao-do-trigo/>>. Acesso em: 05 de nov. 2016.

ALMEIDA, R. R. **Ocorrência de *Fusarium graminearum* e desoxinivalenol em grãos de trigo utilizado no Brasil**. 2006. 59p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2006.

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Performance Tested Methods - Validated Methods**. Disponível em: <<http://www.aoac.org/testkits/testedmethods.html>>. Acesso em: 20 jul. 2016.

BELLUCO, B. **Distribuição de desoxinivalenol nas frações de trigo obtidas no processo de moagem**. 2014. 98p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2014.

BRASIL Resolução nº7, de 18 de fevereiro de 2011. **Dispõe sobre limites tolerados (LMT) de micotoxinas em alimentos**. Brasília, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Culturas: Trigo**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/trigo>> Ministério da agricultura 2012. Acesso em: 15 jun. 2016

BRASIL. Resolução-RDC Nº 59 de 26 de dezembro de 2013. **Prorrogação dos prazos estabelecidos nos artigos 11 e 12 e respectivos anexos III e IV da Resolução da Diretoria Colegiada RDC n.7, de 18 de fevereiro de 2011 que dispõe limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos**. Brasília, 2013.

CALORI-DOMINGUES, M. A.; ALEMIDA, R. R.; TOMIWAKA, M. M.; GALLO, C. R.; GLORIA, E. M.; DIAS, C. T. S. **Ocorrência de desoxinivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil. Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 181-185, 2007.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em

experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, V.1, N.2, p.18-24. 2001.

CAST Council for Agricultural Science and technology. **Mycotoxins: risks in plant, animal and human system**. Ames, 20013. 109 p.

CEPTEC/INPE Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. **Evolução Mensal e Sazonal das Chuvas**. Disponível em: < <http://clima1.cptec.inpe.br/evolucao/pt>> acesso 23 out. 2016.

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. – V. 1, n.3 (2013) – Brasília. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>> Acesso em: 10 de mai. 2016.

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. – V. 3, n.4 (2016) – Brasília. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>> Acesso em: 10 ago. 2016.

CREPPY, E.E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 127, p. 19-28, 2002.

DEL PONTE, E.M. et al. **Giberela do trigo – aspectos epidemiológicos e modelos de previsão**. Fitopatologia Brasileira. Passo Fundo, v. 29, n. 6, p. 587 – 605, nov 2004.

DIAZ, G. J. **Métodos rápidos para la determinación individual y simultánea de tricotecenos. Atualidades em micotoxinas e armazenagem qualitativa de grãos** II. ABMAG. 1ª edição. Florianópolis, 2008.

EMBRAPA. **Origem e Evolução do trigo. 2001**. Disponível em: < http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do08_2.html>. Acesso em: 30 de mar.2016.

EMBRAPA. **Panorama mundial do trigo no Fórum Nacional. 2010**. Disponível em: <www.embrapa.br>. Acesso em: 30 de mar.2016.

EMBRAPA. Annual Wheat Newsletter. V. 59 III. **Contribution Systems from Brazilian agricultural research Corporation**, 2013.

EMBRAPA. **Informações técnicas para Trigo e Triticale – Safra 2015**. VIII Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale Canela - RS. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 229 p., agosto, 2014.

EMBRAPA. **Informações técnicas para Trigo e Triticale – Safra 2016**. IX Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale Passo Fundo - RS. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 228 p., Julho, 2015.

EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) nº 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. **Official Journal of the European Communities**, Brussels, L. 364, p. 5-24, 2006a.

FREIRE, F., VIEIRA, I., GUEDES, M., MENDES, F. Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal. **Embrapa Agroindústria Tropical**. Documentos 110, p. 48, Outubro, 2007.

GARDA, J.; FURLONG, E. B. Otimização de metodologia para derivação de desoxinivalenol através de planejamento experimental. **Química Nova** Rio Grande – RS Vol. 31, No. 2, 270-274, 2008.

HIROOKA, E.Y; ONO, E.Y.S.; FUNGARO, M.H.P.; BERND, L.P.; FUJII, S.; FIGUEIRA, E.L.Z.; SCHIABEL, V.C.; MARSARO JR, A.L.; KADOZAWA, P.; RIBEIRO, R.M.R.; SAMBATTI, P.; GERAGE, A.C.; GARCIA, G.T.; HOROMECHIN, M.; IGARASHI, T.C.; OLIVEIRA, R.M.; MIZUBUTTI, I.Y.; ONO, M.A.; ITANO, E.N.; SUGIURA, Y.; KAWAMURA, O. **Avaliação da micobiota fúngica das regiões brasileiras produtoras de grãos. Atualidades em micotoxinas e armazenagem qualitativa de grãos II**. ABMAG. 1ª edição. Florianópolis, 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. LSPA – **Levantamento Sistemático da produção Agrícola, 2016**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/imprensa/ppts/00000020663902102015392812239582.pdf>>. Acesso em 20 nov.2016

LAMARDO, L. C. A.; NAVAS, S. A.; SABINO, M. Desoxinivalenol (DON) em trigo e farinha de trigo comercializados na cidade de São Paulo. **Revista Instituto Adolfo Lutz** 65(1):32-35, São Paulo, 2006.

MASSON, Ana Paula; CECATTO, Lucineia. Avaliação do processo de limpeza e polimento dos grãos de trigo para eliminação de micotoxina desoxinivalenol. **E-Tech: Tecnologias para Competitividade Industrial**, v. 5, p. 172-187, 2012.

PANDOLFI, V. **Análise Transcricional do fitopatógeno *Fusarium graminearum* Schwabe na interação antagonista com a bactéria *Pantoea agglomerans* Gavini**. 2006. 98p. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2006.

PESTKA, J.J. Deoxynivalenol: mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. **Archives of toxicology** v.84, n.9, p 663-679, 2010.

PEREIRA, L. J.A. **Estratégias para o controlo de Ocratoxina A em alimentos**. 2008. 266 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) –Universidade do Minho, Braga/Portugal, 2008.

RESNIK, S.E; GONZÁLEZ, H.L., PACIN, A. **Evaluación de Brotes de Tricotecenos em Argentina y Uruguay. Atualidades em micotoxinas e armazenagem qualitativa de grãos II**. ABMAG. 1ª edição. Florianópolis, 2008.

RODRIGUES, L, T.; PINTO A., T. B. M. **Levantamento da contaminação com a micotoxina desoxinivalenol (Don) no estado do paraná durante a safra de 2012**. Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais - Cescage, artigo, Ponta Grossa, 2012.

Revista do Instituto Adolfo Lutz, v.49, n.2, p.155-159, 1989.

SABINO, M, Ochikawa AH, Inomata EI, Lamardo LCA. **Determinação de desoxinivalenol em trigo e milho em grão por cromatografia em camada delgada**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v.49, n.2, p.155-159, 1989.

SANTOS, J. S. et al. **Monitoramento e nível de ingestão de desoxinivalenol por trigo**. Semina: Ciências Agrárias. Londrina, v. 32, n. 4, p. 1439-1450, out. /dez. 2011.

SEAB. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Trigo**. Março de 2014. Disponível em:
<http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/trigo_2015.pdf >
Acesso em: 19 jun. 2016.

SEAB. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Trigo**. Dezembro de 2015. Disponível em:
<http://www.agricultura.pr.gov.br/modules/qas/uploads/4735/trigo_151208_hg.pdf >
Acesso em: 30 jun. 2016.

SIMEPAR. Instituto Tecnológico SIMEPAR. **Boletim climático sobre a primavera no estado do Paraná**. Setembro de 2015. Disponível em:
<http://www.simepar.br/site/internas/conteudo/meteorologia/clima_estacoes/arquivos/primavera2015.pdf > Acesso em 05 nov. 2016.