

Ocorrência de fungos de campo e armazenamento em ingredientes e rações para suínos

Occurrence of field fungi and storage and feed ingredients for pigs

Jackellyne Laís Ferreira Lins¹, João Manoel da Silva², Lucas Pereira da Silva¹, Tania Marta Carvalho dos Santos³, Elton Lima Santos⁴.

Resumo - Com presente trabalho objetivou-se verificar a ocorrência de fungos de campo e armazenamento nos componentes vegetais e minerais de uma ração formulada para suínos. O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia Agrícola do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. Foram feitas três coletas de amostras da ração e de seus constituintes. Para contagem UFCg foram feitas diluições seriadas decimais e semeadura em meio de Martin. Posteriormente, sucessivas replicações para purificação dos isolados, e microcultura em lâmina para identificação dos gêneros. O número de unidades formadoras de colônias de fungos detectado foi menor para o PREMIX ($3,71 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$) e maior para o farelo de milho ($4,75 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$) que não diferiu significativamente do farelo de soja ($4,49 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$), na ração o número foi de $4,22 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$. Foram detectadas diferenças significativas entre as coletas ($P < 0,05$) sendo o maior valor observado na primeira ($4,92 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$) e o menor na terceira ($3,56 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$). Foram detectadas a presença de fungos de armazenamento, o *Penicillium* e *Aspergillus*, e os fungos de campo *Fusarium*, *Colletotrichum* e *Cladosporium*. Segundo os padrões microbiológicos os resultados tanto nas amostras dos constituintes, quanto da ração podem ser consideradas aceitáveis.

Palavras chave – Contaminantes, micro-organismos, nutrição, suinocultura.

Abstract - The present research aimed to evaluate the occurrence of field fungi and storage in vegetable and mineral components of a diet formulated for pigs. The experiment was conducted at the Laboratory of Agricultural Microbiology of the Center for Agricultural Sciences, Federal University of Alagoas. Were made three collections of samples of feed and its constituents. To count UFCg decimal serial dilutions were made and inoculation in Martin. Subsequently, successive replications for purification of the isolates, and in microculture slide for identification of genera. The number of colony forming units of fungi detected was lower for the PREMIX ($3.71 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$) and higher for corn bran ($4.75 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$) did not differ significantly from soybean meal ($4,49 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$), the number in the feed was $4.22 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$. There were significant differences between the samples ($P < 0.05$) with the highest value observed in the first ($4.92 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$) and lowest in the third ($3.56 \log_{10} \text{UFCg}^{-1}$). We detected the presence of storage fungi, *Penicillium* and *Aspergillus*, and field fungi *Fusarium*, and *Cladosporium* *Colletotrichum*. According to the microbiological standards results in both the samples of the constituents of the feed as may be considered acceptable.

Keywords – Contaminants, microorganisms, nutrition, swine.

* Autor para correspondência

Recebido em 12 05 2013 e aceito em 14 05 2014

¹ Acadêmica de Zootecnia, Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Campus Delza Gitaí, Br 104 Km 85, Rio Largo, CEP: 571000-000, Alagoas. E-mail: jackellyne_lins@hotmail.com.

² Acadêmico do curso de Agronomia, Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Campus Delza Gitaí, Br 104 Km 85, Rio Largo, CEP: 571000-000, Alagoas.

³ Professora Associada 4, Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Campus Delza Gitaí, Br 104 Km 85, Rio Largo, CEP: 571000-000, Alagoas.

⁴ Professor Adjunto, Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Campus Delza Gitaí, Br 104 Km 85, Rio Largo, CEP: 571000-000, Alagoas.

INTRODUÇÃO

Porém, ao contrário do que muitos imaginam, a mistura de rações é um processo que precisa ser monitorado com muito cuidado, para que se previnam contaminações na alimentação e consequentemente no animal. A suinocultura, no Brasil e no mundo, precisa seguir as normas de competitividade que exigem redução nos custos de produção sem comprometimento da qualidade do produto final. A mistura de rações na própria granja é uma opção para diminuir os custos da atividade.

A presença destas substâncias contaminantes prejudica, não somente os animais que ingerem alimento contaminado com consequentes perdas econômicas, mas também o homem, ao longo da cadeia alimentar, transferindo as micotoxinas ingeridas pelo animal aos alimentos (carne) destinados à alimentação humana.

Geralmente, o processo de infecção das sementes e grãos pelos fungos inicia-se ainda no campo, durante as fases de fecundação e maturação dos grãos e prossegue nas etapas seguintes, quando da colheita, secagem, armazenamento, transporte e processamento (LAZZARI, 1997).

A temperatura e a umidade do ambiente favorecem o crescimento de fungos (PEREIRA et al, 2002). Deste modo, regiões de clima quente e úmido podem exacerbar o desenvolvimento fúngico e por esse motivo, as condições de armazenamento das rações devem ser ainda mais rigorosas para evitar a contaminação e o crescimento de micro-organismos (FRANCO, 1996; FAO, 2004).

Esses micro-organismos são frequentemente divididos em dois grupos: fungos do campo, que infectam o produto ainda no campo e fungos de armazenamento, que invadem pouco antes e durante o armazenamento (MARCIA E LÁZZARI, 1998).

Os fungos do campo requerem um teor de umidade em equilíbrio com uma umidade relativa de 90-100% para crescerem. Os principais gêneros são *Alternaria*, *Bipolaris*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Helminthosporium*, *Nigrospora*, *Rhizoctonia*, *Trichoderma* que invadem grãos e sementes durante o amadurecimento e o dano causado antes da colheita. (MARCIA & LÁZZARI, 1998.)

Os fungos de armazenamento *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor* são encontrados em grande número em armazéns, moinhos, silos, moegas, elevadores, equipamentos e lugares onde são armazenados, manuseados e processados produtos agrícolas. Causam danos ao produto

somente se as condições de armazenagem forem impróprias à manutenção da qualidade do mesmo.

Bernardi; Nascimento (2005) verificaram que contaminação da ração com fungos pode ser por meio do ambiente e seu desenvolvimento pode ser favorecido pela umidade, temperatura e substrato com a multiplicação do microrganismo e produção de metabólitos tóxicos, a exemplo das micotoxinas. No entanto, a evidência de fungos na ração não significa necessariamente a presença de micotoxinas (PEREIRA et al, 2002), entretanto, elevadas contagens fúngicas podem indicar que micotoxinas estejam presentes no alimento (FAO, 2004).

A presença de *Aspergillus flavus* nas rações representa um perigo potencial, pois pode ocasionar enfermidades nos trabalhadores que diretamente estão em contato com ela, como a aspergilose (AKAN et al., 2002), alergias e problemas respiratórios pelo contato e inalação de conídios.

Rações contaminadas por micotoxinas, além de reduzir o desempenho e afetar o estado geral de saúde do animal (principalmente em aves, suínos, bovinos e cavalos), causam redução da produtividade. (BATH et al., 2005).

A análise microbiológica para se verificar quais e quantos micro-organismos estão presentes é fundamental para se conhecer as condições de higiene em que o alimento foi preparado, os riscos que o alimento pode oferecer à saúde do consumidor e se o alimento terá ou não a vida útil pretendida.

Essa análise é indispensável também para verificar se os padrões e especificações microbiológicas para alimentos, nacionais ou internacionais, estão sendo atendidos adequadamente (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Muitos métodos e variações de diferentes métodos que podem ser utilizados para detecção quantitativa e qualitativa de micro-organismos em alimentos, estão relatados na literatura. Entretanto, é desejável utilizar métodos que tenham sido aprovados por órgãos reguladores. Estes podem ser métodos padrões ou recomendados. Atualmente esses métodos são comumente divididos em métodos convencionais e métodos rápidos (Franco & Landgraf, 1996; Ray, 1996).

O procedimento a ser empregado é determinado pelo tipo de alimento que está sendo analisado e pelo propósito específico da análise. A escolha pode também depender dos tipos de micro-organismos a serem pesquisados em um alimento suspeito de ter causado uma doença (Pelczar Jr. et al., 1997).

Segundo Feng (1995), os métodos rápidos aprovados pelos órgãos oficiais, podem ser utilizados somente para controle, sendo que

resultados negativos são considerados como definitivos, mas resultados positivos são considerados presuntivos e devem ser confirmados por métodos padrões.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal de Alagoas na cidade de Rio Largo-AL situada a 9° e 29'45" de latitude sul, 35° e 49'54," de longitude oeste 165 m de altitude apresentando precipitação média anual de 1.842,5 mm.

Foram analisados os constituintes de origem vegetal (Farelo de Milho e Farelo de Soja) e o suplemento mineral e vitamínico (PREMIX). Os ingredientes e a ração foram fornecidos pelo Setor de Suinocultura do Centro de Ciências Agrárias.

Amostras da ração e de todos os ingredientes: farelo de milho, farelo de soja e premix, foram coletadas e acondicionadas em sacos plásticos de polietileno, e levados ao Laboratório de Microbiologia Agrícola do CECA/UFAL.

Para a determinação do número de Unidade Formadora de Colônia (UFC) por grama de cada amostra seguiu conforme a explicação, uma sub-amostra de 25 gramas foi suspensa em 225 ml de solução salina esterilizada.

Após 30 minutos de agitação, foram feitas diluições seriadas decimais até 10^{-4} . Das diluições 10^{-2} - 10^{-4} alíquotas de 1 mL foram depositadas em Placas de Petri contendo meio de Martin (Figura 1).

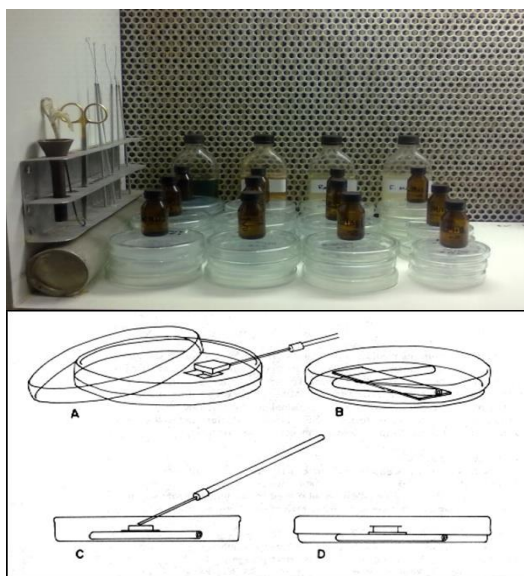


Figura 1 - Diluições em série para a contagem do número de Unidades Formadora de Colônias.

Para calcular as Unidades Formadoras de Colônia foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{UFC g}^{-1} = \frac{\sum \text{FD}}{\text{V}}$$

X = Média de cada diluição

FD = Fator de diluição

V = Volume da diluição adicionado à placa de Petri.

A purificação dos fungos isolados foi por meio de sucessivas repicagens e semeadura em meio de BDA (Batata, Dextrose e Ágar). Sobre a superfície de lâminas, apoiada sobre bastão de vidro, no interior de Placa de Petri (previamente esterilizada) verteu-se com auxílio de pipeta uma pequena alíquota de meio BDA liquefeito. Após solidificação, pequenos fragmentos de estruturas fúngicas e esporos foram semeados no centro da superfície do meio.

Uma porção de algodão foi umedecida em água destilada esterilizada, para manter a umidade durante a incubação e garantir o crescimento dos fungos. As culturas foram incubadas à temperatura ambiente. Os exames do desenvolvimento dos fungos foram efetuados através de observações ao microscópio diariamente.

O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições dispostas em arranjo fatorial; os dados foram transformados \log_{10} , correlacionados e submetidos à análise de variância ($F = P > 0,05$) e aplicação do teste de Scott Knot ($P > 0,05$) para comparação das médias utilizando o Pacote Estatístico SISVAR (1999-2003).

Foi observado o regulamento técnico dos princípios gerais para estabelecimento de critérios microbiológicos para alimentos correlatos no anexo II da Agência de Vigilância Sanitária– Resolução RDC-12, de 12 de janeiro de 2001, uma vez que o Brasil não dispõe de legislação própria até o momento para tal tipo de alimento animal.

Os resultados obtidos foram comparados às normas microbiológicas para rações fareladas padronizadas para a Holanda citadas por Andriguetto et al. (1990), utilizadas por Santos et al (2000) e Gonçalves et al (2005) que consideram de “boa qualidade” rações que apresentam no máximo $4,00 \text{ UFCg}^{-1}$ em \log_{10} , como “aceitável” de $4,00$ a $6,00 \text{ UFCg}^{-1}$ e “inaceitável” as que apresentam contagens acima de $6,00 \text{ UFCg}^{-1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância dos resultados obtidos encontra-se na Tabela 1. O teste F (P < 0,01) detectou diferenças significativas entre os tratamentos.

FV	GL	QM	Fc
Tratamentos(A)	3	5.312	22.771 **
Coletas (B)	2	17.115	73.362**
AxB	6	6.120	26.234**
Erro	88	0.233	
CV (%)	11.25		

Significativo pelo teste F P < 0,01

Tabela 1 - Quadrados médios e significâncias obtidos da análise de variância do número de unidades formadoras de fungos isolados da ração e seus constituintes. Dados transformados em $\log x + 1$. RioLargo-AL, 2012.

Com relação aos constituintes, verificou-se o menor número de UFC para o PREMIX (3,71 \log_{10} UFCg⁻¹) e o maior para o farelo de milho (4,75 \log_{10} UFCg⁻¹) que não diferiu significativamente do farelo de soja (4,49 \log_{10} UFCg⁻¹), na ração o número foi de 4,22 \log_{10} UFCg⁻¹. Foram detectadas diferenças significativas entre as coletas (P<0,05) sendo o maior valor observado na primeira (4,92 \log_{10} UFCg⁻¹) e o menor na terceira (3,56 \log_{10} UFCg⁻¹) (Figura 3).

Considerando-se a interação entre os dois fatores, se verifica que para o farelo de milho não foram detectadas diferenças significativas entre a primeira e a segunda coleta, onde ocorreram os maiores números de UFC (4,83 e 5,05 \log_{10} UFCg⁻¹ respectivamente). Para o farelo de soja detectou-se diferenças significativas entre as três coletas, sendo verificada queda acentuada entre a primeira e a terceira coleta (5,07, 4,61 e 3,78 \log_{10} UFCg⁻¹ respectivamente) (Figura 2).

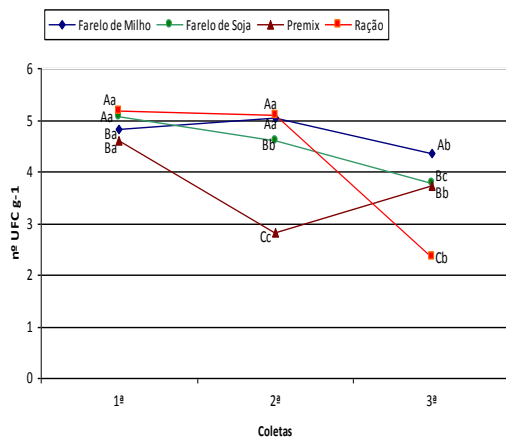


Figura 2 - Número de unidades formadoras de fungos encontradas em uma ração para suíno e seus constituintes.

Também se verificou diferenças significativas entre as três coletas para o PREMIX sendo menor número de UFC na segunda (2,81 \log_{10} UFCg⁻¹) e o maior na primeira (4,59 \log_{10} UFCg⁻¹). Com relação à ração o menor número de UFC foi observado na terceira coleta (2,35 \log_{10} UFCg⁻¹) não sendo observadas diferenças significativas entre a primeira e a segunda (Figura 2).

A presença de microrganismos em alimentos não significa necessariamente um risco para o consumidor ou uma qualidade inferior destes produtos. Excetuando-se um número reduzido de produtos submetidos à esterilização comercial, os diferentes alimentos podem conter bolores, leveduras, bactérias e outros micro-organismos.

Muitos alimentos tornam-se potencialmente perigosos ao consumidor somente quando os princípios de sanitização e higiene são violados. Se o alimento tem estado sujeito a condições que poderiam permitir a entrada e/ou crescimento de agentes infecciosos ou toxigênicos, pode se tornar um veículo de transmissão de doenças (ICMSF, 1984).

De acordo com Andrigueto et al (1990) em matérias-primas ou numa ração de boa qualidade microbiológica o teor de fungos não deve ser maior que 5 \log_{10} UFCg⁻¹ e segundo Martins (2001) o desenvolvimento das populações fúngicas nos alimentos promove um estado de deterioração logo que estas alcançam teores totais da ordem de 7,5 \log_{10} UFCg⁻¹.

Segundo esses critérios os resultados tanto as amostras dos constituintes, quanto da ração podem ser consideradas aceitáveis, no entanto, a presença destes é indesejável, pois quando presentes alguns deles podem produzir micotoxinas.

Os resultados encontrados nas análises micológicas estão descritos na tabela 2, Conforme se verifica, encontrou-se os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* em 100% das amostras, ambos fungos de armazenamento, foram detectadas também a presença dos fungos de campo *Fusarium*, *Cladosporium* e *Colletotrichum* (Figura 3).

Constituintes	Agente fúngico	Origem
Farelo de Milho	<i>Aspergillus</i>	Armazenamento
	<i>Penicillium</i>	Armazenamento
	<i>Fusarium</i>	Campo
Farelo de Soja	<i>Penicillium</i>	Armazenamento
	<i>Aspergillus</i>	Armazenamento
	<i>Colletotrichum</i>	Campo
PREMIX	<i>Aspergillus</i>	Armazenamento
	<i>Penicillium</i>	Armazenamento
	<i>Cladosporium</i>	Campo
Ração	<i>Aspergillus</i>	Armazenamento
	<i>Penicillium</i>	Armazenamento

Tabela 2 - Gêneros de fungos e sua origem encontrada na ração e seus constituintes.

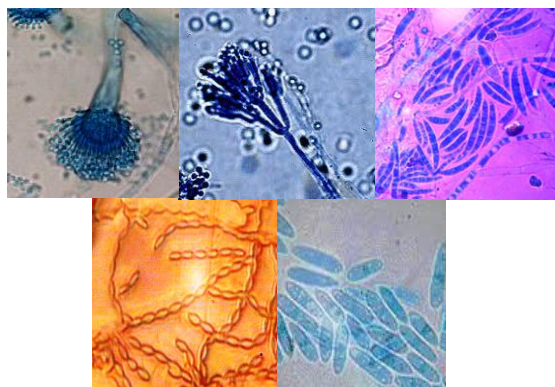


Figura 3 - Microestrutura dos fungos isolados dos ingredientes e da ração: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*.

Os resultados obtidos nesta pesquisa concordam com os obtidos por outros autores, que estudaram o grão de milho armazenado e produtos derivados, sendo os principais fungos detectados pertencentes aos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*, e que também relatam a presença desses gêneros em amostras de milho, farelo de soja e rações para coelhos (ABARCA et al, 1994), frangos (DALCERO et al. 1998; ROSA et al., 2006), cães (BUENO et al, 2001) bovinos (PHILLIPS et al, 1996) aves, peixes e equinos (ARAUJO, 2010; GABBI et al, 2011), e cães (GIRIO et al, 2007).

Espécies de *Aspergillus* são consideradas iniciadoras da deterioração das sementes e grãos, causando danos ao germe, descoloração e alterações nutricionais, (MERONUCK, 1987) podendo crescer com menor teor de água, seguindo-se, após a contaminação, por *Penicillium*, com uma umidade mais elevada, inclusive, desenvolvida em função da atividade metabólica dos primeiros invasores.

A contaminação por fungos de armazenamento como *Aspergillus* e *Penicillium* pode ocorrer em armazéns, moinhos, silos, moegas, elevadores, equipamentos e lugares onde são

armazenados, manuseados e processados produtos agrícolas. Por se tratar de fungos com habilidade de colonizar substratos com baixo teor de umidade, deve-se proceder à secagem criteriosa e imediata da matéria prima, até a umidade segura de armazenamento.

O *Fusarium* foi encontrado apenas no farelo de milho, considerado como fungo de campo, coloniza grãos e sementes durante o amadurecimento, de modo que o dano é causado antes da colheita.

A ocorrência desse fungo no ingrediente pode indicar que as condições no ambiente de armazenamento não foram adequadas, pois o mesmo não se desenvolve durante o armazenamento, exceto, ocasionalmente, grãos com alto teor de umidade (MÁRCIA & LAZZARI 1998).

Fungos dos gêneros *Colletotrichum* e *Cladosporium*. apareceram nos materiais analisados de forma bastante reduzida. *Colletotrichum* é um dos principais fungos que pode ser transmitido pela semente de soja, que são contaminadas e infectadas no campo, e podem ser transmitidas aos seus produtos e subprodutos.

Conforme Santin (2001), cerca de 30 % das perdas em matérias-primas destinadas à alimentação animal são ocasionadas pela falta de estrutura nas condições de transporte, nas condições não ideais de armazenamento e distribuição das rações prontas. A qualidade das rações começa pelo controle da matéria-prima que vai ser utilizada e a escolha dos tipos de ingredientes que serão utilizados para a confecção da mesma.

O milho é um cereal de altas qualidades nutritivas assim como uma importante fonte de energia, pois o amido é o componente principal do grão, servindo como substrato propício à proliferação fúngica. A proteína bruta do farelo de soja varia entre 44 e 48%. O conteúdo em gordura é de no máximo 1 a 2%, adequadamente processado, o farelo de soja pode ser usado sem restrições, para qualquer espécie animal (CUSTÓDIO et al 2005).

A pré-mistura de microminerais e vitaminas, torna o premix um substrato muito rico em nutrientes, que favorecem a proliferação fúngica. por isso a imensa importância do cuidado na fabricação e no armazenamento desse ingrediente fundamental na produção de uma ração. É importante ressaltar que a contaminação fúngica das matérias-primas possibilita que seus produtos diretos ou indiretos apresentem índices de contaminação elevados.

CONCLUSÃO

Segundo os critérios utilizados para determinar a boa qualidade microbiológica nas matérias-primas ou numa ração, os ingredientes e a ração, objetos do presente estudo, podem ser considerados aceitáveis em relação à população fúngica.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABARCA, ML; BRAGULAT, MR; CASTELLA, G; CABANES, FJ. Mycoflora and aflatoxin-producing strains in animal mixed feeds. **Journal of Food Protection** [J. FOOD PROT.]. v. 57, p. 256-258. 1994.
- AKAN, M.; HAZIROGLU, R.; ILHAN, Z.; SAREYYÜPOGLU, B.; TUNCA, R. A case of 9 aspergillosis in a broiler breeder flock. **Avian Diseases**, v.42, p.497-501, april/ june, 2002
- ANDRIGUETTO, JM., PERLY, L, MINARDI, I, GEMAEL, A (1990). **As bases e os fundamentos da nutrição animal**. 4 ed. São Paulo: Nobel. 396 p.
- ARAÚJO, A. G. S.; SANTOS, T. M. C.; ESPÍNDOLA FILHO A. M.; CALHEIROS, A. K. A.; MONTALDO, Y. C. Ocorrência de fungos de campo e de armazenamento em ingredientes e ração para tambaqui(*Colossoma macropomum*). **Pubvet**, v. 4, Ed. 140, Art. 832, 2010.
- BAHT, R. V.; VASANTHI. **Contaminación por micotoxinas de alimentos y piensos: situación general, incidencia y efectos económicos sobre la disponibilidad de alimentos, comercio, exposición de los animales de granja y pérdidas económicas conexas**. Lista da Terceira Conferência Internacional Mixta FAO/OMS/PNUMA sobre Micotoxinas. Mar. 1999.
- BERNARDINI, E.; e NASCIMENTO, J.S. (2005). Fungos anemófilos na praia do Laranjal, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v.72, p 93-7.
- BUENO, D. J., SILVA, J. O., OLIVER, G. **Mycoflora in commercial pet foods**. **J Food Prot.** v. 64, issue 5, pages 741-3, may. 2001.
- CAST. Council for Agricultural Science and Technology. **Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems**, 2003. Task Force Report N°139, Ames, Iowa, USA.
- CUSTÓDIO, D. P.; BRANDSTETTER, E. V.; OLIVEIRA, I. P. OLIVEIRA, L. C.; SANTOS, K. J. G.; MACHADO, O. F.; ARAUJO, A. A. Ração: alimento animal perecível. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**. 1: 131 – 147, 2005.
- DALCERO, A.; MAGNOLI, C.; LUNA, M.; ANCASHI, G.; REYNOSO, M.M.; CHIACCHIERA, S.; MIAZZO, R; PALÁCIO, G. Mycoflora and naturally occurring mycotoxins in poultry feeds in Argentina. **Mycopathologia** 141: 37–43, 1998.
- FAO (2004). **Almacenaje**. Disponível em: <http://www.fao.org>.
- FENG, P. Rapid methods for detecting foodborne pathogens. In: **FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bacteriological analytical manual**. 8.ed. Gaithersburg: AOAC International, 1995. 1v.
- FRANCO, B. D. G. M.; LADGRAF, L (1996). **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 182 p.
- FRANCO, B. D. G. M.; LADGRAF, L (1996). **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 182 p.
- GABBI, A. M.; CYPRIANO, L.; PICCININ, I. Aspectos microbiológicos e físico-químicos de três rações comerciais sob diferentes condições de armazenamento. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, 12, 784-793, 2011
- GIRIO, T. M. S., NADER FILHO, A., ROSSI JUNIOR, O. D., AMARAL, L. A.; GIRIO, R. J. S. Qualidade microbiológica de rações para cães comercializadas no varejo em embalagem fechada e a granel. **Ars Veterinaria**, 28, 36-40, 2012
- GONÇALEZ, E.; PINTO, M.M.; MANGINELLI, S.; FELICIO, J.D. Intoxicação de vacas leiteiras por farelo de algodão naturalmente contaminado com aflatoxinas. **Revista Ciência Rural**, v.34, p.171-174, 2004.
- GONÇALEZ, E.; PINTO, M.M.; MANGINELLI, S.; FELICIO, J.D. Intoxicação de vacas leiteiras por farelo de algodão naturalmente contaminado com aflatoxinas. **Revista Ciência Rural**, v.34, p.171-174, 2004.
- ICMSF (1984) **Ecología Microbiana de los Alimentos 2**. Productos Alimenticios, Sanz Perez, B. et al. Editorial Acribia, Zaragoza, Spain.

- KAWASHIMA, L. M.; SOARES, L. M. V.; MASSAGUER, P. R. The development of an analytical method for two micotoxins, patulin and verruculagem, and survey of their presence in commercial tomato pulp. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, p.269-273, 2002.
- LAZZARI, F.A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2.ed. Curitiba: 1997. 140p.
- MARCIA, B.A. & LAZZARI, F.A. **Monitoramento de fungos de milho em grão, grits e fubá. Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.18, n. 4, p. 363 - 367, 1998
- MERONUCK, R.A.. The significance of fungi in cereal grains. **Plant Disease** 71:287-291. 1987
- PELCZAR, JR, M. J; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e aplicações**. 2.ed São Paulo: McGraw-Hill, 1997 v.2 cap. 30, p. 372-397: Microbiologia de Alimentos.
- PEREIRA, M. M. G.; CARVALHO, E. P.; PRADO, G. (2002). **Crescimento e produção de aflatoxinas por aspergillus flavus e aspergillus parasiticus**. B. CEPPA, 20(1):
- PHILLIPS, S. I.; WAREING, P. W.; DUTTA, A.; PANIGRAHI, S.; MEDLOCK, V. The mycoflora and incidence of aflatoxin, zearalenone and sterigmatocystin in dairy feed and forage samples from Eastern India and Bangladesh. **Mycopathologia**. V. 133, Jan, 1996. p. 15 – 21.
- RAY, B. **Fundamental food microbiology**. Boca Raton: CRC Press, 1996. 516p.
- ROSA, C. A. R; RIBEIRO, J. M. M.; FRAGA, M.J.; GATTI, M.; CAVAGLIERI, L. R.; MAGNOLI, C.E.; DALCERO, A. M.; LOPES, C.W.G. Mycoflora of poultry feeds and ochratoxin-producing ability of isolated *Aspergillus* and *Penicillium* species. **Veterinary Microbiology**, v. 113, p.89-96, 2006
- ROSA, C.A.R., RIBEIRO, J. M. M., FRAGA, M.J., GATTI, M., CAVAGLIERI, L.R. ROSSETTO, C. A.; SILVA, O. F.; ARAÚJO, A. E. S. Influência da calagem, da época de colheita e da secagem na incidência de fungos e aflatoxinas em grãos de amendoim armazenados. **Ciência Rural**, v.35, p.309-315, 2005.
- SANTIN, J.A. Fungos de pré e pós colheita e a qualidade de grãos de milho. 2001. 200p.Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.