



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA - UFOB
Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães – CMLEM
Graduação em Engenharia de Biotecnologia

EDUARDA DE MACEDO SILVA

**FUNGOS EM GRÃOS DE MILHO E SOJA ARMAZENADOS:
CONTAGEM PADRÃO E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA**

Luís Eduardo Magalhães - BA

2023

EDUARDA DE MACEDO SILVA

**FUNGOS EM GRÃOS DE MILHO E SOJA ARMAZENADOS:
CONTAGEM PADRÃO E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal do Oeste da Bahia, como
requisito para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Taidés Tavares dos Santos

Luís Eduardo Magalhães - BA

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

S586 Silva, Eduarda de Macedo.

Fungos em grãos de milho e soja armazenados: contagem padrão e avaliação de atividade enzimática / Eduarda de Macedo Silva. – 2023.

63 f.; il. color.

Orientador: Prof. Dr. Taidés Tavares dos Santos.

Trabalho de Conclusão de Curso: (graduação em Engenharia de Biotecnologia) – Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães, Luís Eduardo Magalhães, BA, 2023.

1. Fungos – aplicações biotecnológicas. 2. Armazenamento de grãos. 3. Agronegócio - Bahia, região oeste da.

I. Santos, Taidés Tavares dos. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia – Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães. III. Título.

CDD: 660.6


EDUARDA DE MACEDO SILVA

**FUNGOS EM GRÃOS DE MILHO E SOJA ARMAZENADOS:
CONTAGEM PADRÃO E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA**


Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal do Oeste da Bahia, como
requisito para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Biotecnologia.

Luís Eduardo Magalhães-BA, 31 de maio de
2023.


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **TAIDES TAVARES DOS SANTOS**
Data: 14/06/2023 16:21:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Taidés Tavares dos Santos
Universidade Federal do Oeste da Bahia

Documento assinado digitalmente
 **JAMILLY RIBEIRO LOPES**
Data: 19/06/2023 14:26:26-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Jamilly Ribeiro Lopes
Universidade Federal do Oeste da Bahia

Documento assinado digitalmente
 **ANTONIO SERGIO SILVA DE CARVALHO**
Data: 19/06/2023 09:40:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Antônio Sérgio Silva de Carvalho
Universidade Estadual do Pará

(A versão assinada deste documento encontra-se na Coordenação do Curso)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha sincera gratidão a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho, direto ou indiretamente. Seus apoios, incentivos e orientações foram fundamentais para a finalização desta etapa.

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus por ter me dado amparo, paciência e sabedoria para chegar até esse momento. Foi Ele quem deu forças para enfrentar todas as adversidades e me guiou durante toda a minha jornada na universidade. Sou grata a Deus por todos os livramentos e principalmente aprendizados que me fizera mais forte.

À minha família, em especial minha mãe Luzivânia Maria Macedo da Silva, por ser essa guerreira que nunca me deixou faltar nada e sempre me incentivou a busca o melhor para mim. Gratidão ao meu pai João Pereira da Silva, aos meus irmãos Everton Macedo Silva, Robson Macedo da Silva, Camila Macedo e a minha sobrinha Alice Macedo Graef pelo apoio incondicional, incentivo e compreensão durante todo esse processo. Sem vocês eu não teria conseguido. Vocês são a minha base e eu os amo de todo o meu coração.

Gostaria de agradecer também ao meu orientador Taidés Tavares dos Santos, por ter sido a primeira pessoa que acreditou no meu potencial dentro da universidade. Obrigada pelos ensinamentos, dedicação, puxões de orelha, incentivos e conhecimentos compartilhados. Gratidão por todas as oportunidades que me deu e pelos bons conselhos.

Além disso, quero expressar minha gratidão aos meus amigos Antônia Fábria do Nascimento Freire, Cáassia Teodoro Barbosa, Luis Carlos Biesek de Oliveira, Maria Eduarda da Silva Ladeia e Edielma de Oliveira Lara. Vocês foram as pessoas que mais me apoiaram nos momentos difíceis na universidade. Obrigada pelas boas risadas, pelos incentivos, pelos momentos de compartilhados quando íamos mal em alguma matéria, obrigada por me ajudar reerguer. Cada um me marcou de um jeito especial e não vou esquecer nunca. Espero vocês realizem os seus sonhos e sejam profissionais referência.

Agradeço também a todos os professores que me deram aula ao longo do curso, obrigada pelos ensinamentos, por me darem uma base para a realização deste trabalho. Gostaria de agradecer à Universidade Federal do Oeste da Bahia pelo suporte e oportunidade de realizar este trabalho de conclusão de curso. Agradeço à instituição por fornecer os recursos necessário e por criar um ambiente propício ao aprendizado e a pesquisa.

Por fim, agradeço ao CNPq, o Auxílio Financeiro PNAES e o Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Tecnológica (PIBITI). O apoio financeiro destas instituições foram fundamentais para a minha jornada acadêmica, permitindo me dedicar aos estudos e chegar até o trabalho de conclusão de curso.

EPIGRAFE

“Não importa o quão devagar você vá, desde que você não pare. Acredite em si mesmo e no seu potencial. Você é capaz de conquistar grandes realizações.”

- Adaptação de Confúcio.

RESUMO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] e o milho (*Zea mays* L.) são importantes culturas para o agronegócio brasileiro, sendo sua cadeia de produção responsável por gerar emprego e renda. Quando armazenados inadequadamente, estes grãos ficam suscetíveis a insetos, bactérias e principalmente fungos. Os fungos são capazes de provocar a deterioração de grãos de milho e/ou soja no período de armazenamento, destacando-se os do gênero *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp. Esses fungos, além de causarem severos danos aos grãos armazenados, são conhecidos também pelo seu elevado potencial de produzir micotoxinas. Apesar dos malefícios associados aos fungos, estes são apreciados do ponto de vista biotecnológico, pela capacidade de produzir uma grande variedade de enzimas hidrolíticas, como amilases, celulases, lipases, pectinases, proteases, entre outras. Tais enzimas vêm sendo aplicadas em uma ampla variedade de processos industriais, como na produção de alimentos como queijos, na indústria têxtil, na produção de detergentes, dentre outros. Diante disso, o presente estudo, objetivou avaliar presença de fungos em amostras de grãos de milho e soja no período de armazenamento e caracterizá-los quanto ao potencial de produção de enzimas celulolíticas e proteolíticas. Através da caracterização morfológica, foi possível agrupar os isolados em 35 morfotipos diferentes de fungos filamentosos e 3 morfotipos de fungos leveduriformes nas amostras de soja e milho. Por meio de microcultivo, foram identificados três gêneros como *Aspergillus* spp., *Curvularia* sp. e *Penicillium* spp. Doze morfotipos mais frequentes foram selecionados para realização do ensaio de atividade celulolítica e 10 para teste de atividade proteolítica. Foi observado que os fungos filamentosos que testaram positivo para produção de celulase, tiveram Índice de Razão Enzimática (IRE) variando entre de 1,06 e 2,57 (média \pm desvio padrão = $1,37 \pm 0,48$). Enquanto que para a atividade proteolítica apenas os fungos isolados da soja testaram positivo, com IRE igual a $1,21 \pm 0,01$. Foram encontrados fungos com potenciais para produção de enzimas proteolíticas e celulolíticas, estes representam potenciais fontes para aplicação em processos industriais.

Palavras-chave: armazenamento de grãos; biotecnologia; celulase; micotoxina; protease.

ABSTRACT

Soy [*Glycine max* (L.) Merrill] and corn (*Zea mays* L.) are important crops for Brazilian agribusiness, and their production chain is responsible for generating employment and income. When improperly stored, these grains are susceptible to insects, bacteria and mainly fungi. Fungi are capable of causing deterioration of corn and/or soybean grains during storage, especially those of the genus *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. and *Penicillium* spp. These fungi, in addition to causing severe damage to stored grains, are also known for their high potential to produce mycotoxins. Despite the harmful effects associated with fungi, they are appreciated from a biotechnological point of view, due to their ability to produce a wide variety of hydrolytic enzymes, such as amylases, cellulases, lipases, pectinases, proteases, among others. Such enzymes have been applied in a wide variety of industrial processes, such as in the production of foods such as cheese, in the textile industry, in the production of detergents, among others. In view of this, the present study aimed to evaluate the presence of fungi in samples of corn and soybean grains during the storage period and to characterize them in terms of their potential for the production of cellulolytic and proteolytic enzymes. Through morphological characterization, it was possible to group the isolates into 35 different morphotypes of filamentous fungi and 3 morphotypes of yeast fungi in soybean and corn samples. Through microculture, three genera were identified as *Aspergillus* spp., *Curvularia*, sp. and *Penicillium* spp. Twelve most frequent morphotypes were selected for cellulolytic activity testing and 10 for proteolytic activity testing. It was observed that filamentous fungi that tested positive for cellulase production had Enzyme Ratio Index (IRE) ranging from 1.06 to 2.57 (mean \pm standard deviation = 1.37 ± 0.48). While for proteolytic activity only fungi isolated from soy tested positive, with IRE equal to 1.21 ± 0.01 . Fungi with potential for the production of proteolytic and cellulolytic enzymes were found, these represent potential sources for application in industrial processes.

Keywords: antimicrobial activity; grain storage; biotechnology; mycology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Aplicação da metodologia de <i>imprinting</i> na amostra de milho.....	31
Figura 2. Aplicação da metodologia de <i>imprinting</i> na amostra de soja.....	31
Figura 3. Aplicação da técnica de microcultivo.....	32
Figura 4. Frasco criogênico usado na conservação dos fungos.....	33
Figura 5. Adição da solução de vermelho congo aos fungos inoculados em meio CMC.....	34
Figura 6. Amostras em suas embalagens originais, utilizadas neste estudo. A= milho; B = soja.....	35
Figura 7. Aspectos macroscópicos de algumas das estirpes de fungos filamentosos obtidos a partir de amostra de milho e soja.....	38
Figura 8. Fungo filamentoso isolado de milho (amostra 2), código de coleção M2.1.4, identificado como <i>Curvularia</i> sp. A: aspectos macromorfológicos; B: aspectos micromorfológicos.....	41
Figura 9. Fungo filamentoso isolado de milho (amostra 3), código de coleção M3.2.6, identificado como <i>Penicillium</i> sp. A: aspectos macromorfológicos; B: aspectos micromorfológicos.....	41
Figura 10. Fungo filamentoso isolado de soja (amostra 1), código de coleção S1.1.3, identificado como <i>Penicillium</i> sp. A: aspectos macromorfológicos; B: aspectos micromorfológicos.....	42
Figura 11. Teste negativo para atividade celulolítica com fungo isolado da amostra 1 de milho (M.1.14)	43
Figura 12. Teste positivo para atividade celulolítica com fungo isolado da amostra 2 de soja (S.2.13)	43
Figura 13. Teste positivo para atividade celulolítica de amostras de soja 2, A (S2.1.2) e B (S2.1.3)	45
Figura 14. Teste negativo para atividade proteolítica, amostra De Milho 1 (M1.1.4).....	45

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Crescimento dos fungos advindos de amostras de milho.....	36
Quadro 2. Crescimento dos fungos advindos de amostras de soja.....	37
Tabela 1. Média de UFC/amostra de milho e soja.....	37
Quadro 3. Morfotipos de fungos filamentosos por amostra de milho e soja e seus aspectos morfológicos mais relevantes.....	38
Quadro 4. Caracterização morfológica das leveduras obtidas das amostras de milho....	40
Quadro 5. Identificação de isolados de milho e soja.....	41
Tabela 2. Estirpes de fungos filamentosos que testaram positivo para atividade celulolítica.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABAPA – Associação Baiana dos Produtores de Algodão

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BDA – Batata Dextrose Ágar

CEPEA/USP – Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento

CNA – Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FAO – *Food and Agriculture Organization*

LSPA – Levantamento Sistemático da Produção Agrícola

IBGE – Instituto Brasileiro de e Estatística

IPEA – Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada

IRE – Índice de Razão Enzimática

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NPK – Nitrogênio, Fósforo e Potássio

PCA – Construção e Ampliação de Armazéns

SEAGRI – Secretaria da Agricultura da Bahia

SEI – Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia

PIB – Produto Interno Bruto

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivos Gerais.....	14
2.1 Objetivos Específicos	14
3. JUSTIFICATIVA.....	15
4. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
4.1. Agronegócio.....	16
4.2. Agronegócio no esta do Bahia	17
4.3. Armazenamento de grãos.....	19
4.3.1. Fungos no armazenamento.....	23
4.3.2 Fungos produtores de enzimas hidrolíticas.....	27
5. METODOLOGIA.....	30
5.1. Aquisição de amostras de grãos de milho e soja para o estudo.....	30
5.2. Análise da presença de fungos em amostras de soja e milho.....	30
5.3. Contagem, caracterização morfológica e identificação dos fungos.....	32
5.4. Conservação dos fungos.....	33
5.5. Teste de atividade celulolítica.....	33
5.6. Teste de atividade proteolítica.....	34
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	35
6.1 Análise da presença de fungos em amostras de soja e milho.....	35
7. CONCLUSÃO.....	47
8. REFERÊNCIAS.....	48
9. APÊNDICE	60

1. INTRODUÇÃO

Milho (*Zea mays* L.) e soja [*Glycine max* L.) Merrill] são importantes produtos do agronegócio brasileiro, sendo sua cadeia de produção responsável por gerar emprego e renda (XAVIER; FRANÇA e CARDOSO, 2020).

Quedas em produtividade agrícola e consequente prejuízos econômicos no Brasil estão associados, entre outros fatores, aos fungos fitopatogênicos, que são micro-organismos capazes de provocar doenças nas plantas (FINOTO *et al.*, 2011). Além disso, vários fungos são capazes de provocar a deterioração de grãos de milho e/ou soja no período de armazenamento, destacando-se os do gênero *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp. Esses fungos, além de causarem severos danos aos grãos armazenados, são conhecidos também pelo seu elevado potencial em produzir micotoxinas, sobretudo em milho.

Micotoxinas são metabólitos tóxicos secundários produzidos por fungos filamentosos. Os fungos crescem e se proliferam bem em grãos quando em condições ideais de temperatura, umidade e presença de oxigênio (PRESTES *et al.*, 2019). Grãos contaminados com metabólitos fúngicos causam uma grande preocupação na saúde de animais e humanos pelo perigo representado com a presença de micotoxinas (GROMADZKA *et al.*, 2016). Isso influencia na desvalorização de lotes danificados no mercado.

Apesar dos malefícios associados aos fungos, estes são apreciados do ponto de vista biotecnológico, pela capacidade de produzir uma grande variedade de enzimas hidrolíticas, como amilases, celulasas, lipases, pectinases, proteases, entre outras. Essas enzimas possuem um papel crucial no metabolismo dos fungos, permitindo-lhes decompor e absorver diversos substratos orgânicos. Tais enzimas vêm sendo empregadas em uma ampla variedade de processos industriais (CHERRY; FIDANTSEF, 2003). Como na produção de alimentos, na indústria têxtil, na produção de biocombustíveis, na indústria farmacêutica e em processos de tratamento de resíduos, entre outras aplicações (QUEIROZ; SOUSA, 2020).

Dentre as enzimas produzidas pelos fungos filamentosos, as celulasas e proteases são as que mais se destacam, devido sua ampla aplicação em processos industriais. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi verificar a presença de fungos filamentosos e leveduriformes em amostras de grãos de milho e soja no período de armazenamento e caracterizá-los quanto ao potencial de produção de enzimas celulolíticas e proteolíticas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Verificar a presença de fungos em amostras de grãos de milho e soja no período de armazenamento e caracterizá-los quanto ao potencial de produção de enzimas celulolíticas e proteolíticas.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a qualidade microbiológica de grãos de milho e soja comercializados em Luís Eduardo Magalhães e utilizados para ração de animais;
- Caracterizar morfológicamente os fungos filamentosos e leveduriformes mais frequentes;
- Analisar o potencial celulolítico e proteolítico dos fungos filamentosos e leveduriformes mais frequentes.

3 JUSTIFICATIVA

O milho e a soja são duas das culturas mais importantes para o agronegócio brasileiro e principalmente no oeste baiano, não só pelo fator econômico, mas também por serem utilizadas na alimentação humana e na produção de ração para animais. No entanto, quando mal armazenadas ficam suscetíveis a contaminação por micotoxinas produzida por fungos pós-colheita.

A proliferação de fungos em grãos não só provoca perdas na produção, mas também desencadeia potenciais riscos à saúde humana e animal. Desta forma, a ingestão de alimentos ou rações contaminadas com micotoxinas pode causar sérios problemas no desenvolvimento dos animais, desde redução no crescimento e no desenvolvimento, até torná-los mais susceptíveis às enfermidades, principalmente nas fases de crescimento e reprodução (RIBEIRO, 2015).

A partir disso, evidencia-se a relevância de ser analisada a presença de fungos em grãos armazenadas, haja vista que estes podem comprometer a qualidade destes produtos e, conseqüentemente, resultar em danos à saúde e/ou prejuízos econômicos. Apesar dos problemas associados aos fungos em grãos, esses micro-organismos representam uma fonte potencial de enzimas hidrolíticas de interesse industrial e biotecnológico.

Na presente proposta de pesquisa, pretende-se investigar a ocorrência de fungos como contaminantes de amostras de grãos de milho e soja sob armazenamento e verificar o potencial destes produzirem enzimas hidrolíticas de interesse biotecnológico.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Agronegócio

O agronegócio é um dos motores da economia nacional, pois expressa valores significativos quanto à sua participação de mercado com o elevado número de empregos gerados pelo setor, refletindo diretamente na renda nacional. O desempenho desse setor vem se perpetuando positivamente ao longo do tempo, segundo os registros apresentados nas formas quantitativas e/ou qualitativas, fica evidente a importância do agronegócio na esfera mundial, superando até mesmo o setor industrial, devido sua dinâmica e participação econômica (SANTOS; ARAÚJO, 2017).

Davis e Goldberg (1957) explicam que o agronegócio é basicamente a soma total das operações de produção agrícola e a distribuição de suprimentos; das operações de produção na fazenda; processamento da produção, armazenamento, logística de distribuição dos produtos agrícolas e itens produzidos a partir deles. Portanto, o agronegócio depende de vários outros setores para realizar suas atividades, de modo que também possui alto impacto na economia, e assim consequentemente na sociedade, com o fornecimento de alimentos e empregos à população.

Atualmente, o agronegócio foi responsável por colocar o Brasil entre as nações mais competitivas do mundo na produção de *commodities* (produtos agrícolas e minerais comercializados no mercado exterior) agroindustriais, resultado de uma combinação de fatores – como investimentos em novas tecnologias e pesquisa, infraestrutura de armazenamento e instituições – que levaram ao aumento exponencial da produtividade do setor (MORAIS *et al.*, 2018).

O agronegócio apresenta grande relevância para as atividades econômicas e tecnológicas. Quando associadas à produção, favorecem a distribuição e consumo de produtos de origem animal e vegetal. Nessa perspectiva, o agronegócio é um dos responsáveis pelo crescimento e estabilidade econômica do Brasil, reduzindo o déficit comercial de outros setores produtivos (FILHO; FISHLOW, 2017). Este setor é responsável por um terço do Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro, tais resultados podem ser atribuídos ao clima tropical e solo propício à agricultura e pecuária, o que possibilita boas condições para produzir, além de preços baixos em períodos de safra.

De acordo com dados do Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada

CEPEA/USP) em parceria com a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA), o agronegócio tem sido reconhecido como um vetor crucial do crescimento econômico brasileiro. Em 2020, a soma de bens e serviços gerados no agronegócio chegou a R\$ 1,98 trilhão ou 27% do PIB brasileiro. Dentre os segmentos, a maior parcela é do ramo agrícola, que corresponde a 70% desse valor (R\$ 1,38 trilhão), a pecuária corresponde a 30%, ou R\$ 602,3 bilhões. Percebe-se que o agronegócio tem alto impacto na economia do Brasil, principalmente em tempos de pandemia.

Contrariando as estimativas, o agronegócio se sobressaiu a outros setores em um ano tão turbulento. Enquanto o PIB brasileiro caiu 4,1% em 2020, o da agropecuária cresceu 2% em 2020 (IBGE, 2021). De acordo com o IBGE, em 2021, apenas como base de comparação, o setor de serviços apresentou uma queda de -4,5% e a indústria -3,5%. O consumo das famílias registrou uma redução de 5,5% no mesmo período (MACHADO; MALAGOLLI, 2021) de pandemia.

Segundo o Ministério da Economia (2020), o bom desempenho do Agronegócio, em um contexto tão adverso, é compreendido devido à essencialidade dos alimentos e dos outros produtos associados ao segmento. Complementando e aprofundando a compreensão deste fenômeno, os resultados favoráveis mesmo durante a pandemia também estão atribuídos ao crescimento de exportações de produtos brasileiros por diversos países.

Só a China foi responsável por 34,1% do total exportado pelo Brasil entre janeiro e julho de 2020, entre os produtos comprados pelos chineses, destacam-se a soja, óleos brutos de petróleo, minério de ferro e seus concentrados, carnes bovinas, suínas, de aves e celulose (MACHADO; MALAGOLLI, 2021). Isso nos mostra o quanto o agronegócio tem sido importante para a economia nacional.

4.2 Agronegócio no Oeste da Bahia

O agronegócio vem exercendo fortes influências no sentido de promover o crescimento e desenvolvimento econômico brasileiro, com destaque para as regiões com vocação expressiva para as atividades agropecuárias (PERLIN, 2011). No estado da Bahia o agronegócio vem crescendo e se consolidando como um dos setores mais promissores e de grande importância econômica e social (INVESTE BAHIA, 2018).

Na agricultura, a Bahia é o maior produtor de grãos da região Nordeste, principalmente, nas culturas de soja, algodão e milho. De acordo com o décimo segundo Levantamento

Sistemático da Produção Agrícola (LSPA), realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e sistematizado pela Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia (SEI), relativo a dezembro de 2021, estimou-se a produção de cereais, oleaginosas e leguminosas, na Bahia, em 10,5 milhões de toneladas, o que representa crescimento de 4,4% em comparação com a safra 2020 – que havia sido o melhor resultado da série histórica do levantamento (SEI, 2021). Alcançando assim, o 7º lugar no ranking nacional dos estados produtores de grãos.

Segundo a Secretaria da Agricultura da Bahia (SEAGRI) (2021), diante das condições de solo e clima, favorecidas pelo bioma cerrado, a Bahia possui condições favoráveis para o cultivo de soja no Oeste do Estado. A região Oeste conta com estações bem definidas, topografia plana e índices pluviométricos que contribuem na definição dos limites territoriais, além de uma extensa bacia hidrográfica com rios perenes sobre o aquífero Urucuia, potencializando a irrigação.

A região oeste da Bahia é vista atualmente como um polo de crescimento da agroindústria, sendo considerada a principal produtora agrícola do estado. Possui 14 milhões de hectares, dos quais oito referem-se à vegetação do Cerrado, possui clima favorável e água favorável a atividades voltadas para a agricultura e pecuária, com um incrível suporte hidrográfico para irrigação. Estes fatores fizeram com que o oeste da Bahia se tornasse referência na produção de grãos e carne no país (FARIA et al., 2018).

O agronegócio surgiu no oeste baiano em meados da década de 1980, quando agricultores da região sul do Brasil começaram a chegar à região e iniciaram o emprego de técnicas de cultivo de grãos, principalmente milho e soja. O desenvolvimento desta agricultura foi beneficiado pelos baixos custos das terras e pelo apoio do governo, num processo de incentivo à “integração” da economia nordestina à nacional. Assim, houve uma ocupação 18 efetiva de novas regiões, com uma agricultura empresarial altamente capitalizada, somando a implantação de novas tecnologias e modificações no uso e ocupação do solo. (PASSOS; ROCHA; HADLICH, 2010).

Desde então, foram instaladas nesta área plantas industriais das principais empresas esmagadoras de soja no Brasil, além de cooperativas e uma variedade de empresas de comércio e de serviços que atendem ao consumo produtivo agrícola. Isto justifica o Oeste Baiano ser uma área importante de recepção de fluxos de outras sub-regiões relacionados ao comércio de ferramentas, maquinários e serviços especializados para a produção agrícola (SANTOS, 2012).

Na cidade de Luís Eduardo Magalhães, por exemplo, concentra-se muitas empresas

nacionais e multinacionais ligadas ao setor agropecuário, além das indústrias que beneficiam 90% da soja produzida na Bahia. Nela, há o Centro Industrial do Cerrado, que fica a aproximadamente 7 km da zona urbana, reúne atualmente muitas empresas de diferentes segmentos, entre elas, destacam-se fabricantes de fertilizantes e sementes, além de grupos especializados em exportação e logística, o que facilita o escoamento de grãos (ABAPA, 2019). Tais implantações fizeram de Luís Eduardo Magalhães um importante produtor agrícola do país.

A produção de grãos na Bahia está concentrada nos municípios de: Barreiras, Luís Eduardo Magalhães, Formosa do Rio Preto, São Desidério, Cocos, Correntina, Riachão das Neves, Baianópolis, Jaborandi e Serra do Ramalho. A Sojicultura movimenta a economia com a comercialização de 50% da soja in natura da região e com a exportação de 47% da produção para países como China e Holanda (MENDONÇA, 2018).

Segundo a Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia (SEI), o PIB do agronegócio baiano totalizou R\$22,7 bilhões no primeiro trimestre de 2022, representando cerca de 24,3% do PIB estadual para o período. Dados anteriores mostram que esta participação é superior aos resultados obtidos no mesmo período de 2021 quando era equivalente a 24% do PIB baiano. Assim, temos que nos dois períodos o agronegócio baiano teve uma participação efetiva na economia. Tal comparação aponta o alto impacto do agronegócio em um ano tão adverso.

4.3 Armazenamento de grãos

O agronegócio é um conjunto de atividades econômicas de produção agrícola e pecuária, que devido ao seu grande volume, tem o armazenamento como setor estratégico (ROCHA *et al.*, 2020). O armazenamento tem como principal objetivo salvaguardar esses produtos de forma organizada por um determinado tempo para distribuição no momento mais adequado comercialmente (NETO *et al.*, 2022). Logo, o armazenamento é a peça-chave para o sucesso da produção de grãos, sendo responsável por manter a qualidade dos produtos durante o pós-colheita.

Segundo a Pesquisa de Estoques divulgada pelo IBGE, a capacidade útil de armazenamento no Brasil teve um aumento de 1,5%, no segundo semestre de 2021, cerca de 183,3 milhões de toneladas no seu total. O estado do Mato Grosso possui a maior capacidade de armazenagem do País, com aproximadamente 45,5 milhões de toneladas, logo atrás temos o

estado do Rio Grande do Sul e o Paraná, com 34,6 e 32,7 milhões de toneladas de capacidade (GOMES, 2022). Os cinco principais produtos agrícolas existentes nas unidades armazenadoras, são soja que têm maior volume (36,7 milhões de toneladas), seguidos pelos de milho (11,4 milhões), arroz (5,5 milhões), trigo (2,4 milhões) e café (1,0 milhão) (BRASIL, 2021).

De acordo com Elias (2003) a armazenagem é o processo de estocagem do produto, de modo que é associada a uma sequência de operações, tais como limpeza, tratamento fitossanitário, limpeza, transporte, classificação, entre outras, com a finalidade de preservar o físico e qualidades químicas desde a colheita até o fornecimento. Após essas operações, os grãos devem obter uma série de qualidades desejáveis, como baixo teor de umidade, alta especificidade, baixa degradação dos componentes nutricionais, baixa susceptibilidade à quebra, alta viabilidade das sementes e ausência de parasitas, fungos, bactérias ou pragas (REGINATO *et al.*, 2014).

O armazenamento da produção passou a ser um critério importante no agronegócio, sendo uma ação intermediária entre a produção e a industrialização dessa matéria prima. As unidades armazenadoras são prédios ou instalações construídas ou adaptadas para conservação, estabilização e armazenamentos da produção agrícola (SOUZA, 2020). As estruturas de armazenagem são posicionadas de maneira estratégica, próximas a rodovias ou parques industriais urbanos, que favorecem o escoamento, contribuindo assim para a estabilização e manutenção do preço das *commodities* (SOUSA, 2022).

Uma característica positiva dos grãos é a possibilidade de serem armazenados por longos períodos de tempo, sem perdas significativas da qualidade. Entretanto, só é possível o armazenamento prolongado, quando se adota corretamente as práticas de colheita, limpeza, secagem, combate a insetos e prevenção de fungos (NUNES, 2022). A escolha do sistema e da unidade armazenadora deve estar de acordo com o volume a ser armazenado e o produtor precisa dispor dos recursos financeiros para a construção, aquisição de equipamentos e operacionalização da estrutura de armazenagem (SENAR, 2018).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), é essencial que o local onde os grãos serão armazenados passe por uma limpeza prévia para remover todos os resíduos de armazenagens passados. Pois, armazéns contendo resíduos podem causar a contaminação e assim causar elevada perda em lotes de sementes e grãos. Isso ocorre porque os resíduos presentes no local estão abrigando insetos e patógenos. Portanto, silos, corredores, elevadores e moegas devem passar por uma limpeza e para complementar a limpeza das

instalações, deve ser realizado o tratamento da estrutura com inseticidas protetores de efeito residual (PAZOLINI, 2019).

Quando uma massa de grãos passa por um processo de limpeza deficiente, resíduos permanecem em contato com os grãos, fazendo com que estes sofram grande influência de agentes como microrganismos, roedores, insetos e pássaros, que se aproveitam desse ambiente propício. Outros fatores que afetam a qualidade dos grãos são a temperatura, a umidade e disponibilidade de oxigênio atuam diretamente sobre os grãos. Desta forma, além de limpo, o material deve ser seco de forma adequada, para que a estabilidade de sua qualidade seja mantida (NUNES, 2022).

No Brasil, os principais sistemas utilizados para o armazenamento de grãos são o convencional, a granel, hermético e emergencial. O sistema convencional, abrange desde unidades bastante rústicas, como os paióis, galpões e armazéns convencionais. Nas unidades de armazenamento a granel, há os silos, que podem ser de alvenaria ou metálicos, com forma cilíndrica, ou horizontal em alvenaria, em geral dotados de sistemas de termometria e aeração, podendo armazenar grandes volumes. No sistema hermético, predominam os tonéis, garrafas PET e outros recipientes utilizados para armazenar quantidades pequenas (ELIAS *et al.*, 2017).

Ainda segundo Elias *et al.* (2017), no caso do sistema emergencial, este é utilizado quando há um déficit na capacidade de armazenamento, onde se constrói piscinas de sacarias para armazenar o grão a céu aberto e, mais recentemente, com o uso de silos bolsas. Essas estruturas devem ter os equipamentos necessários para o recebimento, expedição, separação de impurezas, transporte e secagem (SENAR, 2018).

Os silos são unidades armazenadoras caracterizadas por compartimentos estanques ou herméticos, ou ainda semi-herméticos. Devido à compartimentação disponível, permitem um maior controle das características físico biológicas dos grãos, embora estes percam a identidade de origem, as espécies e padrões agrícolas são armazenados separadamente. O sistema hermético, que não é válido para grandes quantidades/volumes, predomina os tonéis, as bombonas e outros recipientes, para quantidades pequenas, e “silos plásticos” para quantidades um pouco maiores, enquanto “as piscinas de sacarias” são modelos mais utilizados em situações em emergenciais, unidades infláveis e estruturais, e estruturas personalizadas (PATURCA, 2014).

O silo é o método mais seguro de armazenamento, permitindo maior controle de qualidade, devido à facilidade de associação com sistemas de secagem forçada. Pode ser vertical ou horizontal, de acordo com a proporção altura: largura. Um silo vertical tem uma

proporção de 2:1 e pode ser feito de metal ou concreto. Um silo horizontal ou armazenamento a granel tem baixa altura e fundo maior e não é compactado, dificultando a gaseificação (FONSECA, 2021).

Outro sistema muito empregado no armazenamento de grãos é o sistema convencional, é aquele em que os grãos são armazenados dentro de embalagens, em geral sacarias. As unidades de armazenamento neste sistema incluem armazéns, galpões ou celeiros e armazéns tradicionais. São unidades não herméticas onde o armazenamento dos grãos já secos ocorre sem ventilação forçada, por convecção natural do ar externo não aquecido. Habilita a detecção de carga, ainda a inspeção e a coleta de amostras podem ser feitas diretamente (ELIAS *et al.*, 2017).

De acordo com Zen (2014) uma das formas de armazenagem de grãos é o estoque a granel em silos horizontais, também conhecidos como armazéns graneleiros. São caracterizados por possuir uma base maior que a altura, baixo custo e construção mais rápida em relação aos silos verticais, além de armazenar uma quantidade considerável de grãos. Além disso, tais estruturas são recomendadas para culturas que apresentam alta rotatividade, pois as aberturas laterais dos graneleiros permitem a entrada de insetos e reduzem a eficiência da aeração dos grãos.

Neste sentido, o armazenamento a granel requer cuidados intensos, especialmente em casos de armazenamento em longo prazo. Desta forma, amostragens periódicas efetuadas em diferentes posições do silo para determinação da umidade e da temperatura da massa de sementes, permitem verificar se há uniformidade no comportamento do material armazenado e avaliar a eficiência ou necessidade de maior ventilação no silo (ZILLI *et al.*, 2009).

Graças à grande produção de grãos, o Brasil conquistou um lugar importante no comércio internacional como exportador de produtos agrícolas. Como parte da produção fica armazenada por um determinado período de tempo, o país enfrenta problemas nessa área devido a falhas nos processos de armazenamento e baixa capacidade de armazenamento (SENAR, 2018). Embora o setor graneleiro apresente resultados animadores no mundo dos negócios, ainda são ignoradas as etapas básicas do planejamento estratégico que poderiam evitar desperdícios de insumos produtivos ou armazenamento inadequado (TAVARES, 2022).

As estimativas do MAPA e da *Food and Agriculture Organization* (FAO), indicam que as perdas quantitativas médias brasileiras são de aproximadamente 10% do total produzido anualmente. Tais perdas são atribuídas a vários fatores, como principal, temos as estruturas de armazenagem inadequada, bem como também a indevida distribuição da capacidade estática,

ou seja, existe uma dificuldade, uma lacuna, entre a propriedade rural e os canais de distribuição e armazenamento. Assim, tanto os canais de distribuição interno quanto o externo de exportação sofrem, o que resulta em alterações significativas nos custos de logística (SILVA, 2022).

Embora tenha uma grande quantidade de tecnologia empregada na agricultura brasileira, as perdas quantitativas e qualitativas originadas principalmente durante o processo de armazenamento têm provocado grandes prejuízos. Durante o armazenamento, os grãos são submetidos a uma gama de fatores externos, os quais podem ser físicos, como a temperatura e umidade ou químicos como o fornecimento de oxigênio e outros agentes químicos, pode ser também biológico e sofrer a ação de fungos, bactérias, insetos e roedores (REGINATO *et al.*, 2014).

A perda de grãos durante o armazenamento pode ocorrer devido a presença de insetos, que deterioram a qualidade dos grãos, além de muitas vezes também serem vetores para a entrada de fungos no armazém. Os fungos têm a capacidade de produzir micotoxinas, tais toxinas podem causar efeitos nocivos na saúde humana e animal. Além do mais, o armazenamento inadequado dos grãos pode dificultar a exportação de produtos agrícolas, pois afeta diretamente na qualidade dos grãos (LORINI, 2015).

De acordo com Arantes (2022), o governo brasileiro aumentou em 84% os recursos direcionados a investimentos no setor de armazenagem, no Plano Safra anunciado em junho de 2021. Portanto, cerca de R\$4,2 bilhões foram investidos no Programa para a Construção e Ampliação de Armazéns (PCA). No programa, o produtor deve investir em silos de, no mínimo, 6.000 toneladas. A publicação ainda relata que, de acordo com o MAPA, esse valor é suficiente para proporcionar um aumento de até cinco milhões de toneladas a capacidade instalada no país, sendo possível a implementação de 500 novas unidades armazenadoras.

Assim, a existência de uma rede armazenadora é de fundamental importância não só para o escoamento das safras de grãos, mas também para a realização de políticas de abastecimento e expansão da produção agrícola (ARANTES, 2022). O descompasso entre a sazonalidade da produção de grãos e o seu consumo ininterrupto promove, caso não se tenha uma capacidade estática de armazenamento suficiente para a formação de estoques reguladores, uma flutuação dos preços dos produtos.

4.3.1 Fungos no armazenamento

De acordo com estimativas da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

(EMBRAPA) - Milho e Sorgo, os insetos-praga, fungos e micotoxinas somados a ataques de roedores são problemas que têm imposto perdas consideráveis ao produtor de grãos, em torno de 15%, e estão relacionadas ao armazenamento inadequado da produção (BRITO, 2015). Neste sentido, quando os grãos saem do campo, com impurezas e umidade elevada, há o favorecimento do surgimento de pragas nos grãos armazenados. Em virtude disso, antes de serem estocados, os grãos devem passar pelo beneficiamento para melhorar sua qualidade e aumentar o tempo de estocagem, incluindo a uniformização do teor de umidade para 13% (KRAMMES, 2021).

Além de insetos-praga e resíduos de agrotóxicos, um dos principais contaminantes de grãos armazenados são os fungos (BRITO, 2015). Geralmente, a infecção e a deterioração dos grãos por fungos, ocorrem ainda no campo, agravando-se durante as operações de colheita, transporte, secagem, beneficiamento e armazenamento, resultando na redução da qualidade sanitária, física e nutricional dos grãos e seus derivados (CANEPPELE *et. al.*, 2013). Os danos ocasionados por fungos são muitas vezes desconsiderados até alcançarem proporções alarmantes.

Os fungos são organismos heterotróficos unicelulares ou pluricelulares, estes últimos caracterizados pela formação de estruturas filamentosas, as hifas, que constituem o micélio. Na fase reprodutiva, o micélio forma estruturas assexuadas e/ou sexuadas que originam os esporos, principais responsáveis pela propagação das espécies e têm nos insetos-pragas de grãos um dos principais agentes disseminadores (MAIA e JÚNIOR, 2010; SANTOS, 2015; KOSAWANG, 2018). Vivendo nos mais diversos ambientes aquáticos e terrestres, esses organismos podem ser microscópicos (fungos filamentosos e leveduriformes) ou macroscópicos (cogumelos), o que está relacionado à multiplicidade de características das várias espécies do grupo (ABREU; ROVIDA; PAMPHILE, 2015).

Os fungos saprófitos são organismos fúngicos que obtêm seus nutrientes a partir de matéria orgânica em decomposição. Eles são conhecidos como decompositores, pois desempenham um papel fundamental na decomposição da matéria morta (SANTOS, 2015). Em sua maioria os fungos saprófitos são responsáveis pela degradação de matéria orgânica, de modo que obtêm os nutrientes para sua sobrevivência a partir de tecidos, mortos e/ou em decomposição, de plantas ou animais (MORAES, PAES, HOLANDA, 2009).

Sendo frequentemente observados crescendo em madeira em decomposição e em solos enriquecidos com lascas de madeira ou cascas de árvores. Assim, durante o processo de decomposição, a matéria orgânica contida em organismos mortos é devolvida ao ambiente, de

modo que ficam disponíveis para a utilização por outros organismos, favorecendo a fertilidade do solo e sendo fundamentais para a manutenção do ecossistema (SANTOS, 2015; ATHAYDE, SANTOS, SILVA, 2020).

Apesar destes aspectos positivos, tais fungos podem provocar prejuízos econômicos, como o apodrecimento de alimentos, doenças em plantas e animais, além de atacar tecidos, papelões, couros, ceras, combustíveis, petróleo, madeira, papéis, ou seja, quase que qualquer material concebível. Isso ocorre por portarem enzimas que quebram moléculas orgânicas, incluindo lignina e celulose, os fungos são, muitas vezes, incômodos e extremamente destrutivos. O congelamento do alimento é necessário, pois inibe a atuação desses decompositores (SANTOS, 2015).

Por requerem ambientes com umidade relativa superior a 80% para crescerem, fungos do campo contaminam os grãos apenas durante o cultivo (SILVA, 2005). Os principais gêneros de fungos que invadem grãos e sementes durante o amadurecimento, causando danos antes da colheita, são *Alternaria*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Helminthosporium* e *Nigrospora*. Estes fungos não se desenvolvem normalmente durante o armazenamento, exceto em grãos armazenados com alto teor de umidade (MÁRCIA; LAZZARI, 1998).

Os fungos de armazenamento demandam menor quantidade de água, desta forma, estes proliferam em maior intensidade na massa de grãos no período pós-colheita (SILVA, 2005). Fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* são os mais frequentemente detectados em grande número em armazéns, moinhos, silos, moegas, elevadores, equipamentos e lugares onde são armazenados, manuseados e processados produtos agrícolas (MÁRCIA; LAZZARI, 1998). Fungos do gênero *Fusarium* são relatados como potencialmente causadores de prejuízo antes e durante o armazenamento (ARAÚJO *et al.*, 2010).

Os danos causados por estes fungos são muito mais sérios do que os causados pelos fungos de campo e incluem o emboloramento visível, a descoloração, o odor desagradável, a perda de matéria seca, o aquecimento, as mudanças químicas e nutricionais, além da produção de compostos tóxicos denominados de micotoxinas (BENTO *et al.*, 2012). Esporos de fungos do armazenamento são abundantes em locais destinados a processamento e armazenagem de grãos, e, sob condições ótimas de temperatura e umidade relativa, germinam e se desenvolvem (MANTOVANI, 2000; SANTIN, 2001; RUPOLLO *et al.*, 2006; BETO, *et al.*, 2012; LINS, *et al.*, 2014).

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por fungos

filamentosos, que, quando ingeridos, são prejudiciais à saúde humana e animal, além de apresentarem elevada atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica (CANEPPELE *et al.*, 2013). Acredita-se que sua função biológica seja atuar como fator de competição, com bactérias, pelo substrato, ou que seja produzida como um erro ou desvio do metabolismo fúngico durante estresse ambiental, ou ainda, como simples acaso da programação genética de fungos (SOUSA, 2003; KOSAWANG, 2018). De acordo com a FAO 2021, cerca de 25% dos alimentos em nível global estão contaminados por essas substâncias.

As intoxicações podem ser de forma direta, quando o produto é diretamente utilizado na alimentação, ou indireta, quando são utilizados subprodutos e derivados contaminados com micotoxinas (SILVA, 2005). As micotoxinas possuem caráter cumulativo, dessa forma, elas podem também alcançar a cadeia alimentar humana indiretamente. Quando ingerida por animais através de rações contaminadas, os produtos alimentícios derivados destes, como carne, leite e ovos, também estarão contaminados. Tratamentos térmicos e processamentos industriais podem eliminar os fungos presentes, mas não são capazes de eliminar as toxinas dos alimentos (PRESTES, *et al.*, 2019).

Os grãos infectados por fungos são chamados de grãos ardidos. Os grãos ardidos de milho, por exemplo, são resultantes da incidência de fungos que causam as podridões da espiga. A presença de grãos ardidos não apenas reduz o peso e a qualidade dos grãos, mas também pode representar riscos à saúde humana e animal quando o milho é colonizado por fungos que produzem toxinas (micotoxinas). Os grãos ardidos possuem descoloração, pelo menos 25% de sua superfície, podendo ser de matriz que varia de marrom a roxo ou de vermelho claro a vermelho intenso (TIKAMI, 2021).

Segundo a Embrapa Milho e Sorgo (2014), nos últimos anos, as agroindústrias têm adotado, como padrão de qualidade, o limite máximo de tolerância de 6% de grãos ardidos em lotes comerciais de milho. Além disso, o MAPA, juntamente com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabeleceu o limite máximo de 2 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ para micotoxinas em grãos de milho. De acordo com Art. 4º os níveis de micotoxinas deverão ser tão baixos quanto razoavelmente possível, devendo ser aplicadas as melhores práticas e tecnologias na produção, manipulação, armazenamento, processamento e embalagem, de forma a evitar que um alimento contaminado seja comercializado ou consumido (ANVISA, 2011).

Para a agricultura, já foram identificadas mais de quinhentas micotoxinas. Entretanto, as de maior importância são responsáveis pelos maiores índices de contaminação de grãos, sementes e outros alimentos, como: as aflatoxinas e ocratoxinas, produzidas por fungos do

gênero *Aspergillus*, como *A. flavus* e *A. parasiticus*; as ocratoxinas, produzidas por algumas espécies do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*, e as fusariotoxinas, que possuem como principais representantes os tricotecenos, a zearalenona e as fumonisinas, produzidas por diversas espécies do gênero *Fusarium* (CANEPPELE *et al.*, 2013; PRESTES *et al.*, 2019).

O controle de fungos geralmente é realizado por aplicação de fungicidas na produção de sementes e utilização das práticas de manejo agrícolas no campo. Porém, o desenvolvimento de maior resistência dos fungos perante os fungicidas tende a aumentar com o passar dos anos, e com isso as formas de controles precisam ser melhoradas (PRESTES *et al.*, 2019). É preciso cuidados para controlar e, especialmente, evitar a contaminação por micotoxinas.

Por este motivo o controle fitossanitário é de suma importância para o manejo integrado de doenças. O emprego de fungicidas sintéticos tem sido uma alternativa como tratamento convencional, nele, as sementes são tratadas com diferentes formulações de modo que evite o contato e ataque dos possíveis patógenos presentes no solo ou superfície da semente. Tal tratamento é utilizado principalmente durante a fase inicial do desenvolvimento da planta, sendo o período no qual a planta está mais suscetível a danos (XAVIER; FRANÇA e CARDOSO, 2020).

Ainda segundo Xavier, França e Cardoso (2020), embora esta técnica seja muito aplicada entre os produtores de grãos, ela pode provocar riscos de contaminação ao meioambiente e à saúde de produtores e consumidores, devido a sua toxicidade. Portanto, outras alternativas vêm sendo estudadas para um melhor controle biológico, o uso de extratos e óleos essenciais, por exemplo, tem se mostrado promissoras para o tratamento seguro de diversas culturas, pois possuem características interessantes como baixa toxicidade e rápida degradação.

Além disso, um controle eficaz depende também de boas condições de armazenamento dos grãos, evitando o aparecimento e proliferação de fungos e outros patógenos. É importante também, um controle através de testes periódicos com a redução da umidade, manter a temperatura uniforme, evitar insetos, separar os grãos contaminados e aplicar boas práticas de armazenamento e controle (LORINI, 2015).

4.3.2 Fungos produtores de enzimas hidrolíticas

Existem uma variedade de organismos produtores de enzimas hidrolíticas (amilases, celulases, lipases, pectinases, proteases, entre outras), tais como fungos filamentosos, bactérias,

insetos e leveduras (CORONADO-RUIZ; AVENDAÑO; ESCUDERO-LEYVA; CONEJO-BARBOZA *et al.*, 2018). As enzimas hidrolíticas são responsáveis pela quebra de moléculas grandes em componentes menores por meio da adição de água. Essas enzimas têm um papel crucial no metabolismo dos fungos, permitindo-lhes decompor e absorver uma ampla variedade de substratos orgânicos (SILVA; SOUSA; SANTANA, 2023).

Os fungos são reconhecidos como excelentes produtores de enzimas hidrolíticas devido à sua habilidade em secretar grandes quantidades dessas enzimas para o meio ambiente. Isso ocorre devido à sua estrutura celular, que inclui uma parede celular rígida e um sistema de transporte eficiente. Essas características permitem que os fungos secretam as enzimas para fora de suas células, onde elas podem atuar sobre o substrato desejado (HEINZ *et al.*, 2014)

Há diversos estudos acerca de fungos filamentosos que têm a capacidade de produzir enzimas de interesse industrial. Estes fungos produtores de enzimas hidrolíticas são encontrados de fungos produtores de enzimas hidrolíticas que incluem espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Trichoderma* e *Penicillium* (FINI, 2021; POLIZELI, 2005).

As enzimas hidrolíticas produzidas pelos fungos são amplamente utilizadas em diversas aplicações industriais. Por exemplo, na indústria alimentícia, as enzimas podem ser usadas na produção de pães, cervejas e queijos (THAPA *et al.*, 2019; BANO; DAHOT; NAQVI, 2016). Na indústria têxtil, elas são empregadas para remover resíduos de algodão e outras fibras. Além disso, as enzimas hidrolíticas têm um papel importante na produção de biocombustíveis, na indústria farmacêutica e em processos de tratamento de resíduos, entre outras aplicações (QUEIROZ; SOUSA, 2020; WERNECK, 2016).

Nos dias atuais, grande parte das enzimas utilizadas nos processos industriais tem origem microbiana, principalmente de fungos filamentosos (CHERRY; FIDANTSEF, 2003; FILIATRAULT-CHASTEL *et al.*, 2021). O aumento do uso desses microrganismos na indústria aconteceu devido a sua facilidade de manipulação em ambientes laboratoriais controlados, de modo que é possível produzir uma grande quantidade de enzimas em um período de tempo curto, com alta efetividade e custo relativamente baixo (EL-GENDI *et al.*, 2021; SILVA; SOUSA; SANTANA, 2023).

Um bom exemplo de enzima produzida pelos fungos filamentosos são as proteases. Proteases são enzimas que atuam na quebra de ligações peptídicas presentes nas proteínas, resultando na fragmentação das proteínas em peptídeos menores e aminoácidos (QUEIROZ; SOUSA, 2020; RAO; TANKSALE; GHATGE; DESHPANDE, 1998). Essas enzimas desempenham um papel fundamental em diversos processos biológicos, como a digestão de

proteínas, a regulação de vias metabólicas e a degradação de proteínas danificadas ou não funcionais (NASCIMENTO *et al.*, 2021).

As proteases são as enzimas mais produzidas na indústria, pois elas possuem uma diversidade de aplicações como, na indústria farmacêutica, no processamento de couro e de seda, no tratamento de efluentes, na produção de detergente, entre outros (CHAUD; VAZ; FELIPE, 2007). Na indústria alimentícia a protease possui ampla aplicação em diversos processos, devido a sua capacidade de melhorar as propriedades nutricionais, funcionais e sensoriais de ingredientes e produtos, por este motivo a indústria alimentícia é a que mais consome este tipo de enzima (NASCIMENTO *et al.* 2021; FINI, 2021).

Por outro lado, temos também as enzimas celulolíticas (celulases), que estão entre as enzimas mais produzidas na indústria. As celulases são um grupo de enzimas conhecidas como enzimas celulolíticas, que são capazes de degradar a celulose, um polissacarídeo encontrado na parede celular das plantas. Essas enzimas desempenham um papel essencial na natureza, permitindo a degradação da celulose em unidades de glicose, que podem ser usadas como fonte de energia por organismos como bactérias, fungos e alguns animais herbívoros (MONTEIRO; SILVA, 2009).

As aplicações da celulase são vastas e abrangem setores como produção de biocombustíveis, indústria de papel e celulose, alimentos e rações, indústria de detergentes, tratamento de resíduos e indústria têxtil. Essas aplicações exploram a capacidade da celulase de degradar a celulose, contribuindo para processos mais eficientes e sustentáveis em diversas áreas industriais (MARROQUES, 2020; ORLANDELLI *et al.*, 2012). Por tanto, enzimas como protease e celulase são produtos biológicos que têm potenciais aplicações e também alto valor agregado, pois apresentam muitas propriedades e vantagens em relação aos químicos sintéticos, que liberam substâncias poluentes e tóxicas ao meio ambiente (MONTEIRO; SILVA, 2009).

5. METODOLOGIA

5.1 Aquisição de amostras de grãos de milho e soja para o estudo

O estudo foi conduzido na cidade de Luís Eduardo Magalhães, município que fica localizado no extremo oeste do estado da Bahia, cuja vegetação predominante é Cerrado. Todas as coletas foram realizadas em janeiro e fevereiro de 2023. Primeiramente, foram selecionados os locais de aquisição de amostras. Para as amostras advindas de casas agropecuárias, os seguintes critérios de seleção foram adotados: grande fluxo de transeuntes, comercialização concomitante de uma grande variedade de produtos, além de produtos em bom estado de armazenamento. Para as amostras advindas de fazenda, optou-se por fazendas que possuem silos, livres de contato com ar, umidade, insetos e/ou roedores.

Com relação aos critérios de inclusão das amostras, considerou-se os seguintes: grãos necessariamente inteiros; ausência de tratamentos com antibióticos, antifúngicos ou quaisquer outras substâncias inibidoras do crescimento de microrganismos; ausência de sujidades aparentes (fungos, pedras, insetos, resíduos plásticos, etc.). Com relação aos critérios de exclusão de amostras, foram desconsideradas aquelas que contivessem grãos triturados junto com os grãos inteiros ou moídos, ou ainda, amostra com algum tipo de tratamento químico prévio.

As amostras obtidas foram mantidas em suas embalagens originais e imediatamente conduzidas ao Laboratório nº 4 do Centro Multidisciplinar de Luís Eduardo Magalhães (CMLEM), da Universidade Federal do Oeste da Bahia, para as análises.

5.2 Análise da presença de fungos em amostras de soja e milho

Para analisar a presença de fungos nas amostras de soja e milho adquiridas, foi empregada a metodologia de *imprinting*, conforme proposto por Braz *et al.* (2016). Com o auxílio de pinça de dissecação esterilizada, grãos de soja ou milho foram cuidadosamente colocados na superfície de placas de Petri, de 90mm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) suplementado com antibiótico (enrofloxacino a $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$). No momento de obtenção de amostras, a totalidade de grãos de milho adquiridos ou obtidos por doação em cada estabelecimento comercial ou fazenda foi considerada como uma unidade amostral (aproximadamente 1,0 kg). Como alíquota amostral, adotou-se seis unidades de grão (milho ou de soja) por placa, de cada amostra, tal como demonstrado nas Figuras 1 e 2. A

inoculação foi realizada em triplicata.



Figura 1. Aplicação da metodologia de *imprinting* na amostra de milho.
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

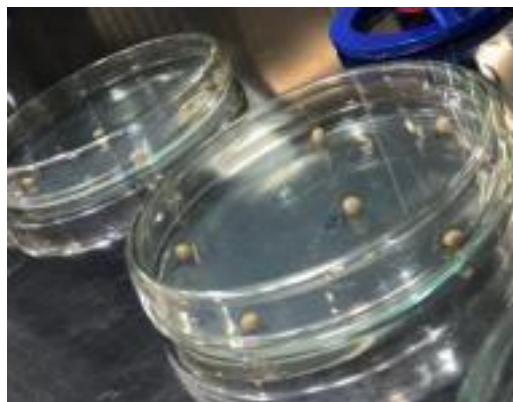


Figura 2. Aplicação da metodologia de *imprinting* na amostra de soja.
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Na sequência, foram cronometrados cinco minutos de contato com o meio de cultura BDA e, novamente com pinça de dissecação esterilizada, os grãos foram removidos da superfície da placa de Petri para serem descartadas. Em seguida, as placas de Petri inoculadas foram incubadas ($28 \pm 2^\circ \text{C}$) e monitoradas diariamente por dez dias para a observação do crescimento de microrganismos.

5.3 Contagem, caracterização morfológica e identificação dos fungos

À medida que os fungos cresceram na superfície do meio de cultura, foram contados e purificados, por meio de repiques sucessivos e caracterizados. A purificação dos fungos ocorreu por meio de repiques sucessivos em meio de cultura BDA.

Os fungos filamentosos foram caracterizados tanto pela observação de características macroscópicas (coloração, borda, aspectos de crescimento das colônias) vistas a olho nu (LACAP *et al.*, 2003) ou com auxílio de microscópio estereoscópico, e microscópicas observadas por meio da técnica de microcultivo (RIDDELL, 1950), com adaptações. Tal técnica foi realizada utilizando placas de Petri esterilizadas, no qual em seu interior foi colocado uma lâmina de microscopia, uma lamínula e um pedaço de algodão (Figura 3).

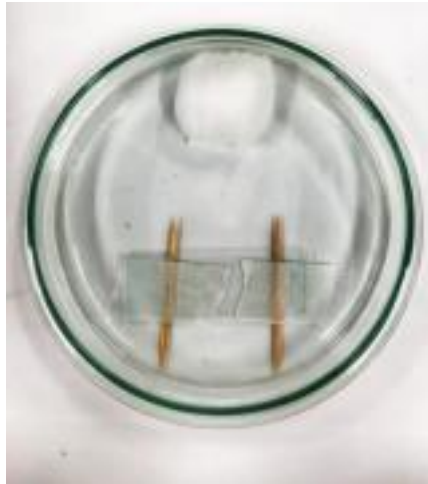


Figura 3. Aplicação da técnica de microcultivo.
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Após a esterilização, foi cortado e retirado um cubo (1cm x 1cm) do meio BDA contendo os fungos purificados. Este cubo contendo o fungo foi colocado sobre a lâmina de microscopia e coberto com a lamínula esterilizada. Logo depois, o algodão que estava dentro da placa de Petri foi umedecido com água destilada esterilizada e na sequência foi colocada em uma incubadora para ficar por trinta dias. Durante este período a cada 4 dias o algodão foi umedecido com água destilada e trocado quando necessário.

Uma vez purificados, os fungos filamentosos foram agrupados em morfotipos. Com relação aos fungos leveduriformes, estes foram caracterizados morfológicamente com base nas características macroscópicas, observada em microscópio óptico a 1000x, como proposto por Kurtzman *et al.* (2011) e agrupados em morfotipos.

5.4 Conservação dos fungos

Após a purificação, os fungos filamentosos foram preservados pelo método de Castellani (CASTELLANI, 1939). O método Castellani consiste na utilização de frascos criogênicos e/ou de penicilina (Figura 4), contendo água destilada estéril (3 mL) onde alíquotas de blocos de ágar de crescimento fúngico são adicionados, armazenando-os em condições ambientais de laboratório ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) (EMBRAPA, 2012).



Figura 4. Frasco criogênico usado na conservação dos fungos.

(Fonte: <https://www.rbrvidros.com.br/frasco-penicilina-vial-transparente-com-tampa-e-rolha-de-borracha/prod-9236072/>)

Com relação às leveduras, estas foram conservadas em meio GYP (2% de glicose, 1% de extrato de levedura e 0,5% de peptona) acrescido de Glicerol (15%) (SPENCER; SPENCER, 1996).

5.5 Teste de atividade celulolítica

A avaliação de atividade celulolítica foi realizada apenas com fungos filamentosos. Usando a metodologia proposta por Sunitha, Devi & Sriniva (2013), foi possível avaliar o potencial de degradação dos fungos isolados. Estes foram inoculados em meio de cultura ágar-carboximetilcelulose (CMC) em sua constituição temos: glicose: 1,0 g; extrato de levedura: 0,1 g; peptona: 0,5 g; ágar: 16,0 g; 0,5% de CMC; água destilada: 1,0 L. Após preparado o meio, os fungos foram inoculados e as placas foram incubadas a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ durante três a cinco dias. Após esse período, as placas foram lavadas com solução aquosa de vermelho congo a 0,2 % por 15 min, como mostra a Figura 5.



Figura 5. Adição da solução de vermelho congo aos fungos inoculados em meio CMC.
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Após este período, a solução foi descartada e as placas foram lavadas novamente com 5,0 mL de solução de NaCl 1,0 M. A produção de enzimas foi observada pela formação de halos enzimáticos, os quais foram medidos com paquímetro e os resultados expressos em milímetros. O teste foi realizado em duplicata. Para comparar a atividade enzimática entre as diferentes estirpes testadas, o Índice de Razão Enzimática (IRE) foi calculado usando a equação proposta por Hankin & Anagnostakis (1975), isto é, $IRE = D/d$, onde D é igual ao diâmetro total (halo + colônia) e d é igual ao diâmetro da colônia, ambos medidos com um paquímetro. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado.

5.6 Teste de atividade proteolítica

De acordo com a metodologia proposta por Ribeiro Júnior (2015), foi possível verificar a atividade proteolítica dos fungos isolados. Estes foram inoculados em placa de Petri contendo meio de cultura BDA suplementado (9:1) com solução estéril de leite em pó desnatado composto de (10,0%). As placas foram incubadas a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ durante cinco dias. O teste foi realizado em duplicata e, na leitura, a presença de um halo translúcido significava que o fungo era proteolítico e, na sua ausência, negativo para atividade proteolítica. A avaliação de atividade proteolítica de leveduras não foi realizada. O Índice de Razão Enzimática (IRE) foi calculado usando a equação proposta por Hankin & Anagnostakis (1975), conforme mencionada acima.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 Análise da presença de fungos em amostras de soja e milho

Adotando os critérios de inclusão de amostras previamente estabelecidos, foi possível obter um total de 3 (três) amostras de grãos de milho em casas agropecuárias. As amostras estavam armazenadas, para comercialização, em sacos de ráfia. No momento da aquisição, foram fracionadas em sacos plásticos de primeiro uso (Figura 6A) e foram transportadas, nessas embalagens até o laboratório.


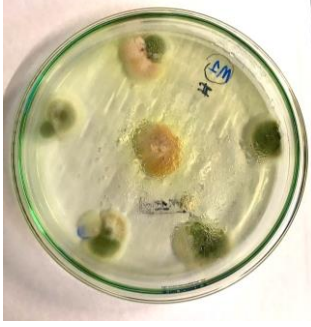
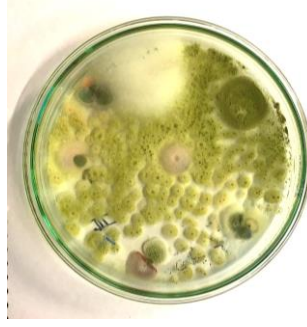
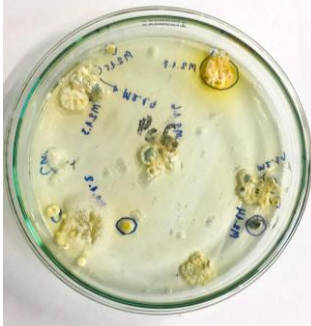


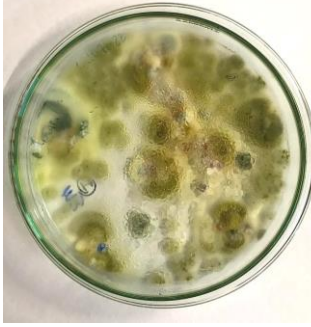
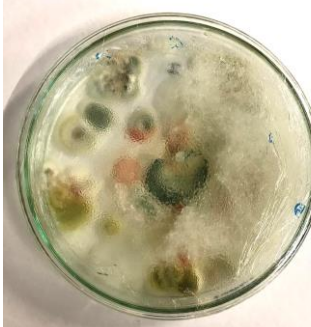



Figura 6. Amostras em suas embalagens originais, utilizadas neste estudo. A= milho; B = soja.
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

As amostras de soja foram gentilmente cedidas por proprietários de duas fazendas, uma localizada no município de São Domingos – GO, e a outra no Anel da Soja, estando localizadas a 178 km e a 40 km de Luís Eduardo Magalhães – BA, respectivamente. Dessa forma, foram analisadas 2 (duas) amostras de soja. As amostras de soja estavam armazenadas em silos nas fazendas e, assim como ocorreu com as amostras milho, foram fracionadas em sacos plásticos de primeiro uso (Figura 6B) e foram transportadas, nessas embalagens até o laboratório.

Após sete dias de inoculação das amostras de milho, foi possível notar a presença de vários fungos, como mostrado na Quadro 1. Neste período foi possível realizar a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por amostra. Fungos filamentosos de crescimento rápido foram observados a partir das amostras 2 e 3.

Quadro 1. Crescimento dos fungos advindos de amostras de milho.

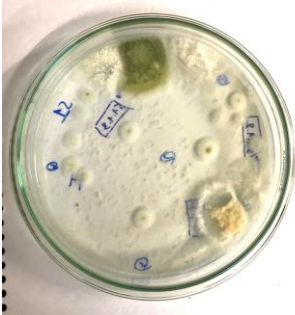
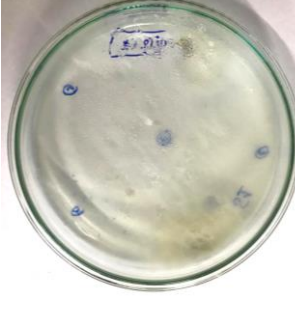
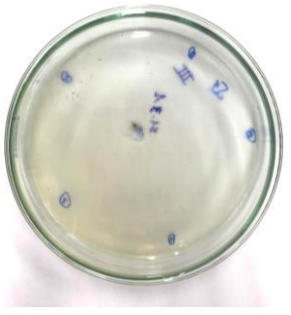
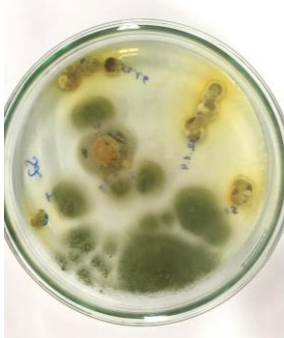
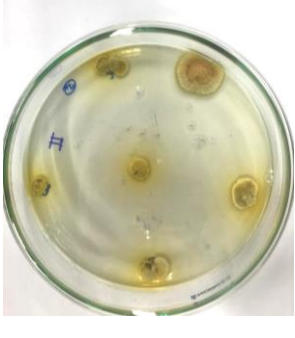

AMOSTRA	PLACA 1	PLACA 2	PLACA 3
MILHO 1 (M1)			
MILHO 2 (M2)			
MILHO 3 (M3)			

Abreviações: M = milho; 1, 2 ou 3: identificação da amostra.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Quanto às amostras da soja (Quadro 2), foi possível perceber o crescimento dos fungos apenas a partir do 5º dia de inoculação. Analisando a quadro, pode-se notar que a amostra 1 da soja apresentou uma menor ocorrência do crescimento de fungos, enquanto que na amostra 2, houve um maior crescimento de fungos filamentosos.

Quadro 2. Crescimento dos fungos advindos de amostras de soja.

AMOSTRA	PLACA 1	PLACA 2	PLACA 3
SOJA 1 (S1)			
SOJA 2 (S2)			

Abreviações: S = milho; 1 ou 2: identificação da amostra.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Após a etapa de isolamento e purificação dos fungos filamentosos, foi possível calcular as UFC por amostra (Tabela 1).

Tabela 1. Média de UFC/amostra de milho e soja.

Amostras	Placa 1		Placa 2		Placa 3		Média ± Desvio padrão
	FF	FL	FF	FL	FF	FL	
M1	$1,5 \times 10^1$	$1,0 \times 10^0$	$1,8 \times 10^1$	0	$1,9 \times 10^1$	0	$1,7 \times 10^1 \pm 2,1 \times 10^0$
M2	Inc.	0	Inc.	$1,0 \times 10^0$	Inc.	0	Inc.
M3	$5,5 \times 10^1$	0	$6,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^0$	$4,0 \times 10^1$	0	$5,2 \times 10^1 \pm 1,0 \times 10^1$
S1	$1,5 \times 10^1$	0	$3,0 \times 10^0$	0	$1,0 \times 10^0$	0	$6,3 \times 10^0 \pm 7,6 \times 10^0$
S2	$3,1 \times 10^1$	0	$1,6 \times 10^1$	0	$2,1 \times 10^1$	0	$2,3 \times 10^1 \pm 7,6 \times 10^0$

Abreviações: M = milho; S = soja; FF = fungo filamentoso; FL = fungo leveduriforme; Inc. = incontável.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Uma grande variedade morfológica de fungos filamentosos foi observada a partir do milho e da soja (Figura 7). Por meio da caracterização morfológica e de microcultivo, foi possível realizar o agrupamento das estirpes em 35 morfotipos, conforme descrito no Quadro 3.

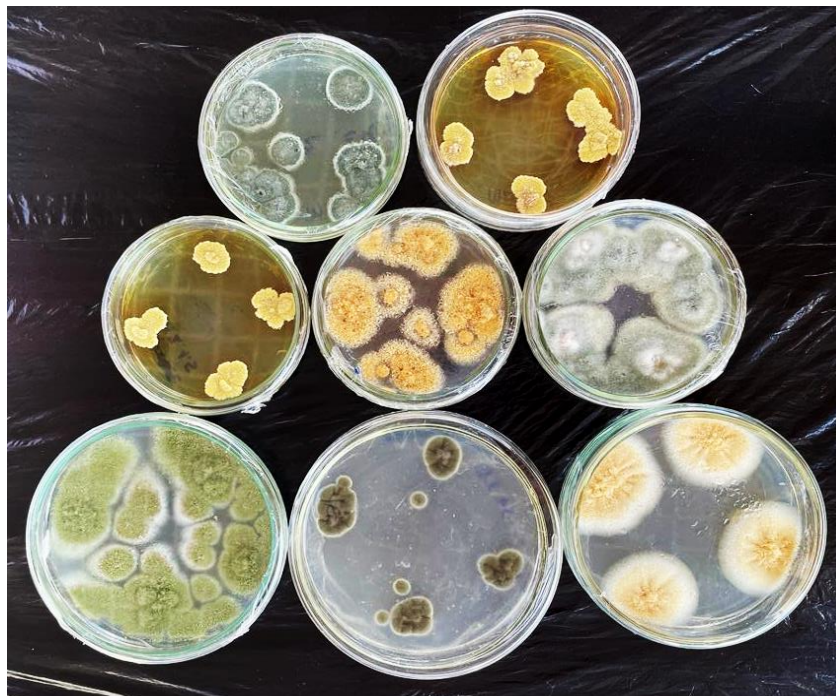


Figura 7. Aspectos macroscópicos de algumas das estirpes de fungos filamentosos obtidos a partir de amostra de milho e soja.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Quadro 3. Morfotipos de fungos filamentosos por amostra de milho e soja e seus aspectos morfológicos mais relevantes.

Morfotipo	Amostra	Códigos de coleção	Caracterização Macromorfológica
			Cor da frente / cor do reverso / outras informações relevantes
01	M1	M1.1.1; M1.2.1;M1.3.1	laranja com borda branca / laranja com borda amarelada
02	M1	M1.1.2;M1.2.2.; M1.3.2; M1.3.6	borda branca com camada verde e ponto alaranjado no centro/ camada esverdeada e centro laranja / muita produção de esporos
03	M1	M1.1.3; M1.2.3; M1.3.3	branco/branco
04	M1	M1.1.4	branco/amarelo
05	M1	M1.2.4	centro verde, 2ª camada branca e 3ª amarela/ esverdeado
06	M1	M1.3.4	branco cotonoso/branco
07	M1	M1.3.5	verde amarelado / bege / muita produção de esporos

Continuação Do quadro 3.

Morfotipo	Amostra	Códigos de coleção	Caracterização Macromorfológica
			Cor da frente / cor do reverso / outras informações relevantes
08	M2	M2.1.1; M2.2.2	branco com ponto amarelo no centro/ amarelo
09	M2	M2.1.2; M2.2.1	branco cotonoso/ centro marrom claro com borda branca amarelada
10	M2	M2.1.3; M2.2.3	centro verde com borda branca/bege amarelado
11	M2	M2.1.4	centro preto com borda branca com película cotonosa por cima/ preto com borda branca
12	M2	M2.1.5	amarelo/amarelo
13	M2	M2.1.6	centro preto com duas bordas uma amarela e outra branca/ centro amarelo com um ponto preto e borda branca
14	M2	M2.2.4	verde com borda branca / branco com preto
15	M3	M3.1.1; M3.3.1	branco cotonoso/ branco amarelado
16	M3	M3.1.2; M3.2.2; M3.3.2	branco cotonoso com ponto verde no centro/ verde (depois de dias, fica preto)
17	M3	M3.1.3; M3.2.1; M3.3.3	branco com amarelo/amarelo esverdeado
18	M3	M3.1.4	branco/branco
19	M3	M3.1.5; M3.3.4	branco com laranja/branco amarelado
20	M3	M3.2.3	branco com ponto verde em volta cotonoso alaranjado/ laranja amarelado expeço
21	M3	M3.2.4; M3.3.5	branco/branco
22	M3	M3.2.6; M3.3.6	centro verde com borda branca/ ondas verdes clara com borda branca / muita produção de esporos
23	S1	S1.1.1; S1.2.1	branco cotonoso com centro amarelado borda branca/branco amarelado
24	S1	S1.1.2	branco cotonoso/branco
25	S1	S1.1.3	centro cotonoso esverdeado com borda branca/ verde e camadas branca / muita produção de esporos
26	S1	S1.2.2	centro amarelo com borda esverdeada/ amarelo esverdeado / muita produção de esporos
27	S1	S1.3.1	preto/preto
28	S2	S2.1.1; S2.3.1	centro verde cotonoso com borda branca/ esverdeado com dois halos e borda branca / muita produção de esporos
29	S2	S2.1.2; S2.2.1	centro amarelo cotonoso com borda amarela e terceira borda bege/ centro marrom com borda amarela
30	S2	S2.1.3	centro amarelo e marrom com borda bege/ bege / muita produção de esporos
31	S2	S2.1.4; S2.2.2; S2.3.4	centro verde claro; 2ª camada amarelo escuro e borda branca/amarelo

Continuação Do quadro 3.

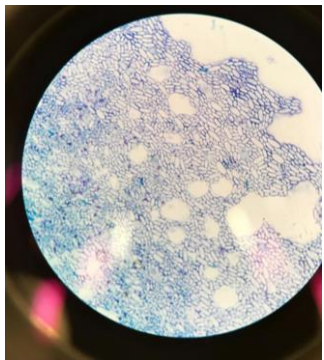
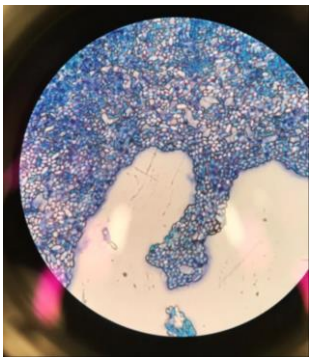
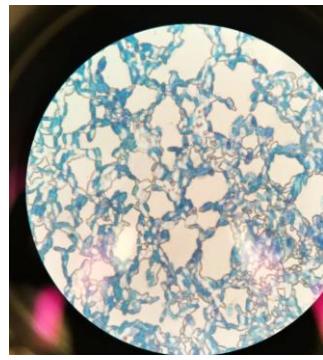
Morfotipo	Amostra	Códigos de coleção	Caracterização Macromorfológica
			Cor da frente / cor do reverso / outras informações relevantes
32	S2	S2.1.5; S2.3.2	amarelo/ amarelo
33	S2	S2.1.6; S2.3.3	centro marrom com borda amarela/ amarelo escuro
34	S2	S2.2.4	verde cotonoso igual a lã/ ponto vermelho no centro e resto esverdeado
35	S2	S2.2.5	amarelo escuro com borda branca/ marrom no centro com borda laranja

Abreviações: S = soja; 1 ou 2: identificação da amostra.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Quanto às leveduras, observou-se apenas uma UFC de levedura a partir de cada amostra de milho (Tabela 1), cuja caracterização morfológica encontra-se no Quadro 4. Não foram observadas UFCs de levedura a partir de amostras de soja.

Quadro 4: Caracterização morfológica das leveduras obtidas das amostras de milho.

Amostra	M1	M2	M3
Levedura			

Abreviações: M = milho; 1, 2 ou 3: identificação da amostra.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Embora um morfotipo não tenha equivalência direta com uma espécie, é possível presumir, a partir da análise do Quadro 3, que existe uma alta diversidade de espécies de fungos filamentosos associados ao milho e à soja. Por meio de microcultivo e contraste com literatura especializada em micologia, foi possível a identificação de alguns dos isolados, conforme descrito no Quadro 5 e nas Figuras 8, 9 e 10.

Quadro 5: Identificação de isolados de milho e soja.

Morfotipo	Código de coleção	Identificação
11	M2.1.4	<i>Curvularia</i> sp. (Figura 8)
22	M3.2.6; M3.3.6	<i>Penicillium</i> sp. (Figura 9)
25	S1.1.3	<i>Aspergillus</i> sp. (Figura 10)

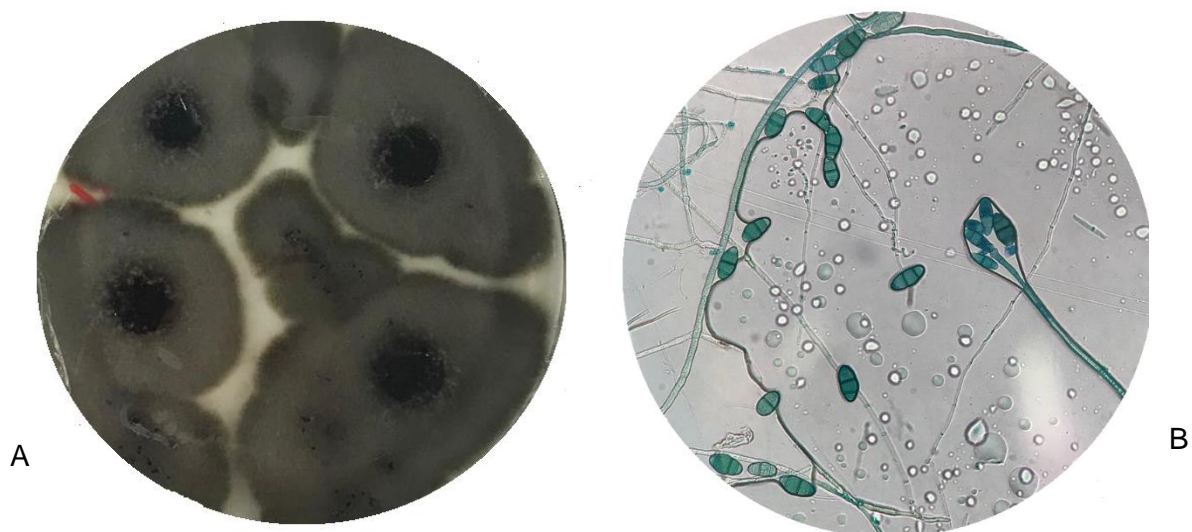


Figura 8. Fungo filamentosso isolado de milho (amostra 2), código de coleção M2.1.4, identificado como *Curvularia* sp. A: aspectos macromorfológicos; B: aspectos micromorfológicos.

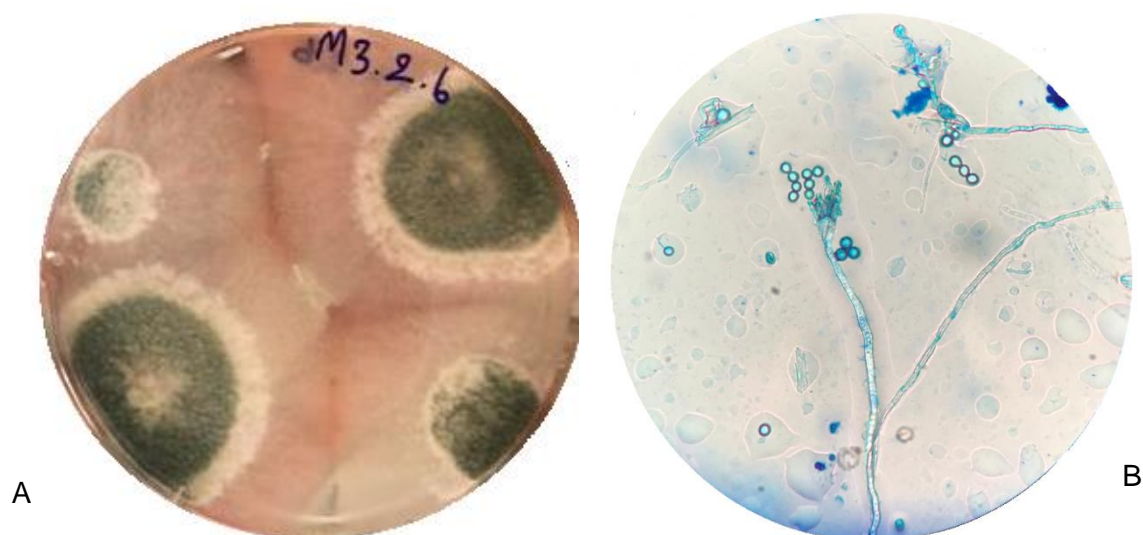


Figura 9. Fungo filamentosso isolado de milho (amostra 3), código de coleção M3.2.6, identificado como *Penicillium* sp. A: aspectos macromorfológicos; B: aspectos micromorfológicos.

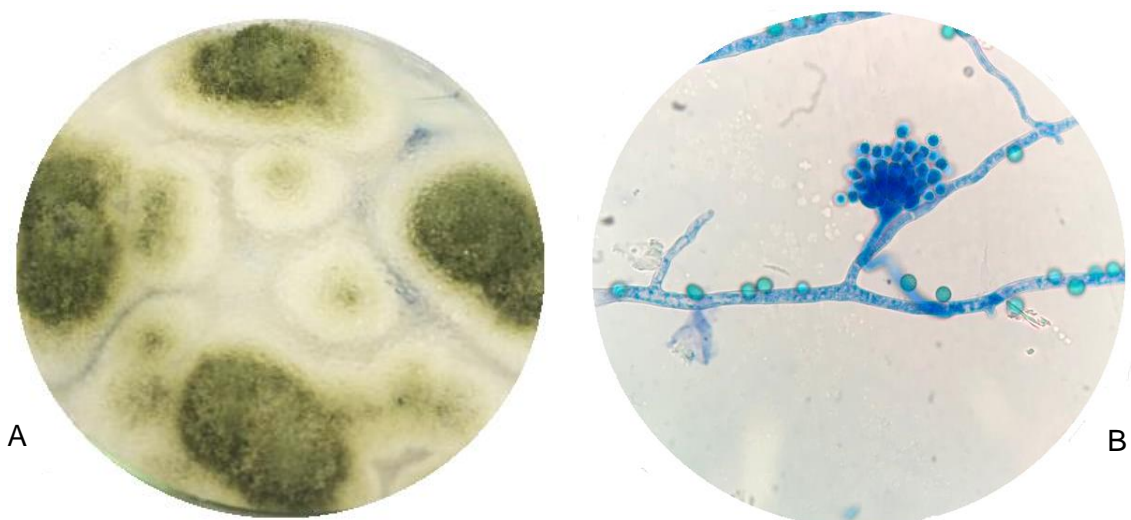


Figura 10. Fungo filamentososo isolado de soja (amostra 1), código de coleção S1.1.3, identificado como *Aspergillus* sp. A: aspectos macromorfológicos; B: aspectos micromorfológicos.

É importante ressaltar que fungos do tipo *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp, são fungos que possuem a capacidade de produzir micotoxinas (MÁRCIA; LAZZARI, 1998). A presença destes fungos em grãos armazenados pode levar à deterioração dos grãos, perda de valor nutricional e contaminação através das micotoxinas produzidas (BENTO *et al.*, 2012; CANEPPELE *et al.*, 2013.). Neste sentido, a detecção e o controle de tais micotoxinas são essenciais para garantir a segurança alimentar e minimizar os riscos associados à ingestão destas substâncias. Embora seja importante a detecção das micotoxinas, este não foi o foco do estudo. Por conta disso, não foi realizado testes com as micotoxinas produzidas pelos fungos encontrados.

Assim, 12 dos morfotipos mais frequentes foram selecionadas para realização do ensaio de atividade celulolítica. Destes, sete foram isolados de grãos de milho e cinco de grãos de soja. Alguns dos resultados (positivos e negativos) estão apresentados, de forma ilustrativa, nas figuras 11 e 1.



Figura 11. Teste negativo para atividade celulolítica com fungo isolado da amostra 1 de milho (M.1.14).

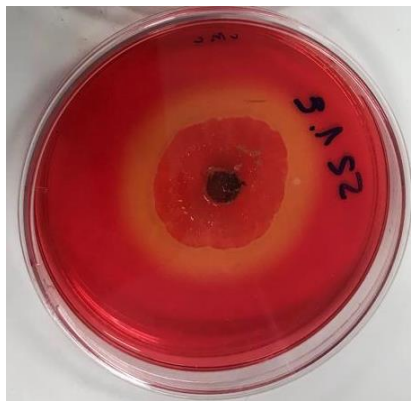


Figura 12. Teste positivo para atividade celulolítica com fungo isolado da amostra 2 de soja (S.2.13).

Assim, podemos afirmar que cerca de 90% dos fungos filamentosos testados, advindos de amostras da soja, testaram positivo, pois apenas 1 testou negativo. Enquanto que 57% dos fungos filamentosos isolados de amostras de milho apresentaram resultado negativo. Podemos visualizar a formação de halos nos testes positivos e a ausência deles nos testes negativos. De acordo com Neirotti & Azevedo, 1988, os halos são representados pela zona mais clara ao redor da colônia correspondente, sua presença indica que naquela região houve degradação por atividade de celulolítica.

Na tabela 2, podemos observar os fungos filamentosos que testaram positivo para produção de celulase, onde o IRE variou de 1,06 a 2,57 (média \pm desvio padrão = $1,37 \pm 0,48$). Quando o IRE é igual ou próximo a 1, significa que a taxa de formação de produtos pela enzima é igual a taxa de consumo de substrato. Há um equilíbrio entre a atividade enzimática e a concentração de substrato. De modo que isso sugere que a enzima está funcionando eficientemente, convertendo os substratos em produtos na mesma taxa em que os substratos estão sendo consumidos.

O fungo S2.1.5, se apresentou como um potencial produtor de celulase com um Índice de Razão Enzimática (IRE) (\geq) 2,00. Um IRE de 2 indica que a enzima está agindo de forma

mais rápida para converter os substratos em produtos, em comparação com a taxa na qual os substratos estão sendo consumidos. Isso pode indicar uma maior eficiência ou atividade enzimática em relação ao equilíbrio entre a enzima e os substratos.

Tabela 2. Estirpes de fungos filamentosos que testaram positivo para atividade celulolítica.

Código de coleção	Øc* (mm)	Øh** (mm)	IRE	SDD***
M1.1.4	36,3	38,6	1,06	0,48
M1.3.4	43,0	44,4	1,03	0,48
M2.1.6	21,5	35,3	1,64	0,45
M2.2.4	20,1	21,0	1,04	0,49
S2.1.2	30,3	44,5	1,47	0,47
S2.1.3	32,0	41,0	1,28	0,52
S2.1.5	17,1	44,0	2,57	0,54
S2.3.1	17,0	25,5	1,50	0,06

(*) Diâmetro médio da colônia; (**) Diâmetro médio do halo; (***) Desvio padrão do IE

Quanto à atividade proteolítica, foi possível observar que apenas os fungos filamentosos isolados da amostra de soja apresentaram um halo claro ao redor da colônia, caracterizando como produtores de protease, como pode ser visto na figura 13.

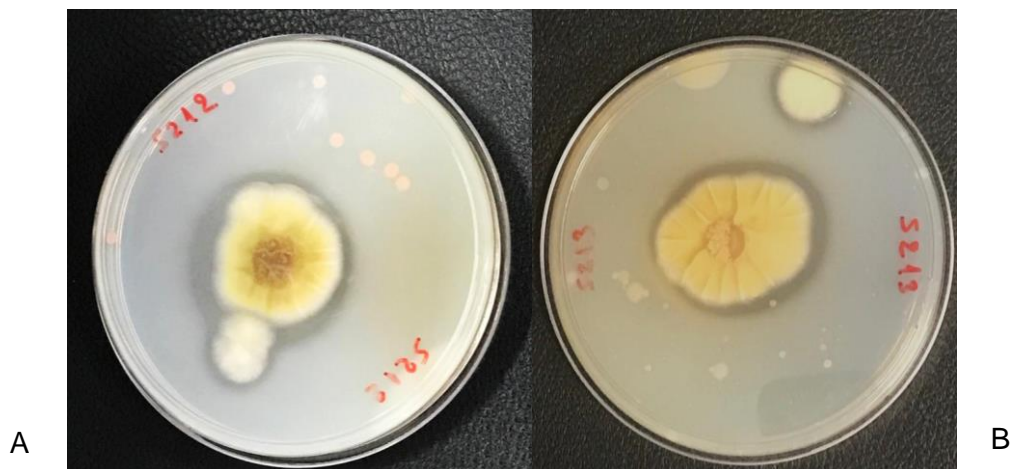


Figura 13. Teste positivo para atividade celulolítica de amostras de soja 2, A(S2.1.2) e B (S2.1.3)

Para o fungo S2.1.2 um diâmetro médio de colônia e halo igual a 25,5 e 30,0, resultando em um IRE igual a 1,20, e enquanto o fungo S2.1.3 obteve um diâmetro médio e halo foi igual a 29,1 e 35,5, resultando em um IRE igual a 1,22, a (média \pm desvio padrão = $1,21 \pm 0,01$). Enquanto na figura 14 é possível ver a ausência de halo do fungo isolado do milho.



Figura 14. Teste negativo para atividade proteolítica, amostra De Milho 1 (M1.1.4).

Muitos estudos apontam que diferentes espécies de fungos isolados da soja são capazes de produzir proteases. Esses fungos podem ser encontrados tanto no solo quanto nos grãos de soja. As proteases produzidas por fungos isolados da soja têm aplicações industriais significativas. Por exemplo, elas podem ser usadas na indústria alimentícia para melhorar a digestibilidade de proteínas, auxiliar na produção de produtos fermentados à base de soja, como o tofu e na produção de hidrolisados proteicos usados como ingredientes em alimentos e suplementos nutricionais (ORLANDELLI *et al.*, 2012).

Além disso, as proteases fúngicas também encontram aplicação em setores como a indústria farmacêutica, detergentes, têxteis e produtos de cuidados pessoais. Elas podem

auxiliar na produção de medicamentos, na remoção de manchas de proteínas em tecidos e na formulação de produtos de limpeza eficazes (WENZEL, *et al.*, 2013). Portanto, os fungos isolados da soja têm potencial para produzir proteases, que desempenham um papel importante em várias indústrias, proporcionando benefícios significativos na manipulação e processamento de proteínas.

Por tanto, embora não tenham sido identificados sua morfologia, tivemos fungos isolados da soja que apresentaram como positivos para ambas as enzimas, de modo que estes fungos podem se tornar promissores produtores de enzima proteolítica e celulolíticas. Neste sentido, se faz necessário estudos futuros visando identificar molecularmente tais estipes, além disso se faz necessário testes para determinar as condições ideais de produção dessas enzimas, de modo que poderão viabilizar o emprego das mesmas no desenvolvimento de produtos e/ou processos biotecnológicos.

7. CONCLUSÃO

A partir das análises realizadas, foi possível identificar uma grande variedade de fungos associados a grãos de milho e soja em condições de armazenamento. Estes foram agrupados em 35 morfotipos diferentes de fungos filamentosos e 3 morfotipos de fungos leveduriformes. Assim, através do microcultivo e análise das características macroscópicas, foi possível identificar três fungos a *Curvularia* sp. da amostra 2 do milho com código M2.1.4, *Penicillium* sp da amostra 3 do milho com código M3.2.6; M3.3.6 e o *Aspergillus* sp. Isolado da amostra 1 da soja (S1.1.3). É válido ressaltar que já era esperado encontrar tais estirpes, pois fungos como *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp são frequentes em grãos armazenados.

Além disso, através dos testes foi possível identificar fungos com potencial para produção de enzimas proteolíticas, como destaque para os fungos isolados da amostra de soja que testaram positivo tanto para enzima proteolítica, quanto para celulolíticas os fungos com código S2.1.2, S2.1.3 e o S2.1.5 que obteve um IRE igual a 2,57. Alguns isolados do milho testaram positivo apenas para atividade celulolítica. Por tanto, embora não tenham sido identificados, estes fungos se mostram promissores para produção de enzimas hidrolíticas. Assim, para o emprego das mesmas no desenvolvimento de produtos e/ou processos biotecnológicos, se faz necessário estudos futuros para identificar as condições ideais de produção e atividade enzimática de tais fungos.

8. REFERÊNCIAS

- ABAPA - Associação Baiana de Produtores de Algodão. **O Agronegócio gera empregos no oeste baiano.** Luís Eduardo Magalhães - BA, 2019. Disponível em: <https://abapa.com.br/maisnoticias/agronegocio-gera-empregos-no-oeste-baiano/> Acesso: 03 fev. 2023.
- ABREU, J. A. S.; ROVIDA, A. F. S.; PAMPHILE, J. A. Fungos de interesse: aplicações biotecnológicas. **Revista UNINGÁ Review**, v. 21, n. 1, p. 55-59, 2015.
- ALVARENGA, A. **Agronegócio no Brasil: qual a importância para o país?** Reagro Blog, 2022. Disponível em: <https://rehagro.com.br/blog/agronegocio-no-brasil-qual-o-seu-papel-e-importancia/>. Acesso: 22 mar. 2023.
- ALI-SHTAVEH, M.S; GHDEIB, S. I. A (1999). Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. **Mycoses** 42: 665-672.
- ARAÚJO, A. J. S Ocorrência de fungos de campo e de armazenamento em ingredientes e ração para tabaqui (*Colossoma macropomum*). **PubVet**, v. 4, n. 35, p. 944-950, 2010.
- ARNOLD, A. E. *et al.* Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. **Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)**, v. 100, n. 26, p. 15649-15654 2003.
- ATHAYDE, S. C.; SANTOS, A. R. B.; SILVA, P. H. S. da; Fungos em sementes de feijão caupi: detecção, qualidade sanitária e controle alternativo. **Rev. Embrapa Mid-North**, 21 ed. v.1, n. 4, p. 53, 2020.
- AZEVEDO, J. L. *et al.* Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 1, 40-65, 2000.
- BAILEY, B. A. *et al.* Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. **Biological Control**, v. 46, p. 24-35, 2008.
- BANO, S.; DAHOT, M.; NAQVI, S. H. Optimization of culture conditions for the production of protease by **pleurotus eryngii**. 13, p. 193-198, 2016.

BARNETT, H. L; HUNTER, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. New York: **MacMillan**, v. 3, p. 241, 1972.

BENTO, L. F. *et al.* Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 44-49, 2012.

BRASIL, C. I. **IBGE: capacidade de armazenagem agrícola subiu no 2º semestre de 2021.** Agência Brasil. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2022-06/ibge-capacidade-de-armazenagem-agricola-subiu-no-2o-semester-de-2021> Acesso: 10 mar. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO Nº 7, DE 18 DE FEVEREIRO DE 2011(*). Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007_18_02_2011_rep.html#:~:text=RESOLU%C3%87%C3%83O%20N%C2%BA%207%2C%20DE%2018,Regulamento%20aprovado%20pelo%20Decreto%20n%C2%BA. Acesso: 22 mar. 2023.

BRAZ, C. O. *et al.*, Contaminantes fúngicos associados à castanha-do-brasil. (Bertholletia Excelsa HUMB. & BOMPL.) Comercializada em um município do interior do estado do Pará. **Revista Cereus** v. 8, n. 3. p.19-31, 2016.

BRITO, S. Armazenamento inadequado de grãos resulta em cerca de 15% de perdas. **Embrapa - Milho e Sorgo (MG)**, 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/3860638/armazenamento-inadequado-de-graos-resulta-em-cerca-de-15-de-perdas>. Acesso: 16 mar. 2022.

CAMPOS, T. B. A importância do instituto biológico no desenvolvimento dos estudos sobre pragas de grãos e produtos armazenados. **Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal**. São Paulo, p.85-86, 2008.

Canal Rural: Agência Brasil. **Guerra na Ucrânia afeta preços de commodities agrícolas, segundo Ipea**. Disponível em: <https://www.canalrural.com.br/noticias/agricultura/guerra-na-ucrania-afeta-precos-de-commodities-agricolas-segundo-ipea/> Acesso: 15 mar, 2022.

CANEPPELE, C. *et. el.*, Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. Informativo Técnico Nº. 231. Departamento de Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, **Universidade Federal de Mato Grosso -UFMT**. Mato Grosso, 2013.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine & Hygiene**, v.24, p. 270-276, 1939.

CHAUD, L. C. S.; VAZ, P. V. FELIPE, M das G. CONSIDERAÇÕES SOBRE A PRODUÇÃO MICROBIANA E APLICAÇÕES DE PROTEASES. **Rev. Nucleus**, p. 87-97. v. 4. n. 1-2, set. 2007.

CHERRY, J. R.; FIDANTSEF, A. L. Directed evolution of industrial enzymes: an update. **Current opinion in biotechnology**, 14, n. 4, p. 438-443, 2003.

CHUTIA M, Deka BP, Pathak MG, Sarma TC, Boruah P (2009). Antifungal activity and chemical composition of Citrus reticulata Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. **LWT - Food Science and Technology** 42(3), 777–780.

CLARKE, B. B. *et al.* Endophyte-mediated suppression of dollar spot disease in fine fescues. **Plant Disease**, v.90, p. 994–998, 2006.

Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA): **Panorama do Agro**. Disponível em: <https://cnabrazil.org.br/cna/panorama-do-agro>. Acesso: 22 mar. 2023.

CORONADO-RUIZ, C.; AVENDAÑO, R.; ESCUDERO-LEYVA, E.; CONEJO-BARBOZA, G. *et al.* Two new cellulolytic fungal species isolated from a 19(th)-century art collection. **Sci Rep**, 8, n. 1, p. 7492, May 10 2018.

DAVIS, J. H.; GOLDBERG, R. A. **A Concept of Agribusiness**. Boston: Harvard University Graduate School of Business Administration, 1957.

EL-GENDI, H. *et al.* A Comprehensive Insight into Fungal Enzymes: Structure, Classification, and Their Role in Mankind's Challenges. **Journal of Fungi**, 8, p. 23, 2021.

ELIAS, M.C *et al.*. Tecnologias de pré-armazenamento, armazenamento e conservação de grãos. **Polo de Inovação Tecnológica em Alimentos da Região Sul**, Corede-Sul, SCT-RS, UFPEL. Capão do Leão, RS - 2017.

ELIAS, M. C. Armazenamento e Conservação dos Grãos. **Polo de Inovação Tecnológica em Alimentos da Região Sul Conselho Regional de Desenvolvimento da Região Sul**. Pelotas, p.1- 83, 2003.

EMBRAPA. Aplicação Foliar de Fungicidas e Incidência de Grãos Ardidos e Fumonisinias Totais em Milho. **Boletim de Pesquisa** 114. pág. 8, 1ª edição. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas- MG, 2014.

EMBRAPA. Coleção de culturas de microrganismos multifuncionais da Embrapa clima temperado: métodos de preservação de culturas. **Embrapa Temperate Agriculture**, 2012. - Portal Embrapa. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/948370/colecao-de-culturas-de-microrganismos-multifuncionais-da-embrapaclima-temperado-metodos-de-preservacao-de-culturas>. Acesso: 19 abr. 2023.

FARIA, K. M. M. et al. Agronegócio no Oeste da Bahia: um estudo bibliométrico sobre a soja e o algodão. **Cadernos de Prospecção – Salvador**, v. 11, n. 2, p. 688-702, junho de 2018.

FERREIRA, T. F. *et al.* Sanitary quality of soybean seeds treated with fungicides and insecticides before and after storage. **Journal of Seed Science**, v.41, n.3, p.293-300, 2019.

FILHO, J. E. R. V; FISHLOW, A. Agricultura e Indústria no Brasil: Inovação e Competitividade. **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada – IPEA** 305 p.: il., Brasília, 2017.

FILIATRAULT-CHASTEL, C. *et al.* From fungal secretomes to enzymes cocktails: The path forward to bioeconomy. **Biotechnology Advances**, 52, p. 107833, 2021.

FINI, M. As enzimas microbianas utilizadas no processamento de alimentos. Revista Aditivos Ingredientes, **Editora Insumos**, n. 181, p. 26-38, 2021.

FINOTO, E. L. *et al.*, Efeito da aplicação de fungicida sobre caracteres agronômicos e severidade das doenças de final de ciclo na cultura da soja. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 5, n. 1, p. 44-49, 2011.

FONSECA, M. J. O; **Milho: Secagem e Armazenamento**. Embrapa Agroindústria de Alimentos. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/producao/colheita-e-pos-colheita/secagem-e-armazenamento>. Acesso: 10 mar. 2023.

GAO, F; DAI, C; LIU, X. Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. **African Journal of Microbiology Research**, v. 4, n. 13, p. 1346–1351, 2010.

GROMADZKA, K; *et al.*, Occurrence of estrogenic mycotoxin - Zearalenone in aqueous environmental samples with various NOM content. **Res. Water**. 43:1051-1059, 2009.

GOMES, I. **Produção agrícola: Estimativa de maio aponta safra recorde de 263 milhões de toneladas em 2022.** Agência IBGE Notícias. Disponível em [https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-enoticias/noticias/33999-estimativa-de-maio-aponta-safra-recorde-de-263-milhoes-de-toneladas-em-022#:~:text=Estimativa%20de%20maio%20aponta%20safra%20recorde%20de%20263%20milh%C3%B5es%20de%20toneladas%20em%202022,-Editoria%3A%20Estat%C3%ADsticas%20Econ%C3%B4micas&text=A%20safra%20brasileira%20de%20cereais,hoje%20\(8\)%20pelo%20IBGE](https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-enoticias/noticias/33999-estimativa-de-maio-aponta-safra-recorde-de-263-milhoes-de-toneladas-em-022#:~:text=Estimativa%20de%20maio%20aponta%20safra%20recorde%20de%20263%20milh%C3%B5es%20de%20toneladas%20em%202022,-Editoria%3A%20Estat%C3%ADsticas%20Econ%C3%B4micas&text=A%20safra%20brasileira%20de%20cereais,hoje%20(8)%20pelo%20IBGE). Acesso: 10 mar. 2023.

GOULART, A. C. P. Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle. Embrapa, 78p. 2ed. **Revista e ampliada**. Brasília- DF, 2018.

GROMADZKA, K. *et al.* Mycotoxins and related Fusarium species in preharvest maize ear rot in Poland. **Plant, Soil and Environment**, v. 62, n. 8, p. 348-354, 2016.

GURGEL, L. M. S. *et al.* Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de milho tratadas com produtos alternativos em condições de armazenamento. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v.15, n.1, p. 127-136, 2018.

HANKIN L.; ANAGNOSTAKIS S. L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. **Mycologia**. 1975;67(3): 597-607. DOI: 20.1080/00275514.1975.12019782.

HEINZ, K. G. H. *et al.* AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HIDROLÍTICA DE MICROORGANISMOS ISOLADOS DE RESÍDUO DO PROCESSAMENTO DE PAPEL. REA – **Revista de estudos ambientais (Online)** v.16, n. 2, p.37-47, jul./dez. 2014.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. PIB cai 4,1% em 2020 e fecha o ano em R\$ 7,4 trilhões. **Agência IBGE Notícias**, 2021. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-denoticias/releases/30165-pib-cai-4-1-em-2020-e-fecha-o-ano-em-r-7-4-trilhoes>. Acesso em: 23 mar. 2023.

Investe Bahia: Secretaria de Desenvolvimento Econômico do Estado da Bahia. **Agronegócio**

As condições do solo, a altitude de mais de 1000 metros e o clima de Morro do Chapéu são fatores que contribuem para o plantio da maçã. Disponível em: <http://www.investebahia.com/oportunidades/agronegocio/> Acesso: 3 mar. 2023.

KRAMMES, R. **Pragas de grãos armazenados: quais espécies ocorrem e como manejar?** Blog Mais soja. Disponível em: <https://maissoja.com.br/pragas-de-graos-armazenados-quais-especies-ocorrem-e-como-manej> Acesso: 3 mar. 2023.

KOSAWANG, C. *et. al.*, Fungal communities associated with species of *Fraxinus* tolerant to ash dieback, and their potential for biological control. **Fungal Biology**, v. 122, p. 110-120, 2018.

KURTZMAN C. P; FELL J.W; BOEKHOUT T; ROBERT V (2011a) Methods for the isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts. In: Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T (eds) *The yeasts: a taxonomic study*, fifth edn. **Elsevier**, Amsterdam, pp 87–110

LACAP, D. C., K. D. HYDE & E. C. Y. LIEW, 2003. An evaluation of the fungal ‘morphotype’ concept based on ribosomal DNA sequences. **Fungal Diversity** 12: 53-66.

LARONE, D. H. **Medically important fungi; a guide to identification**. Washington: **American Society for Microbiology**, v. 230, 1993.

LINS, J. L. F. *et. al.*, Ocorrência de fungos de campo e armazenamento em ingredientes e rações para suínos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n.2, p. 14-20. 2014.

LORINI, I. Colheita e Armazenamento. Proteção: Perdas anuais em grãos armazenados chegam a 10% da produção nacional. **Visão agrícola nº13**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2015.

MACHADO, A. P.; MALAGOLLI, G. A. OS IMPACTOS DA PANDEMIA DO COVID-19 NO AGRONEGÓCIO BRASILEIRO. **Revista Interface Tecnológica**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 500–512, 2021.

MAIA, L. C; JUNIOR, A. A. C. **Introdução: os fungos do Brasil**. In: FORZZA, RC., org., *et al.* INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil [online]**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p. 43-48. Vol. 1.

MÁRCIA, B.A; LÁZZARI, F.A. Monitoramento de fungos em milho em grão, grits e fubá. **Revista Food Science and Technology**, v. 1, n. 4, p. 18, 1998.

MARCINIK, Y. A. F. **Guerra entre Rússia e Ucrânia pode afetar o agronegócio brasileiro.** Periódico UEPG - Redação de mídia integrada. Disponível em: <https://periodico.sites.uepg.br/index.php/todas-as-noticias/240-economia/2625-guerra-entre-russia-e-ucrania-pode-afetar-o-agronegocio-brasileiro>. Acesso: 4 mar. 2023.

MARROQUES, J. C. Aplicações de enzimas na indústria têxtil. 2020. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – **Universidade Federal de Uberlândia**, Uberlândia, 2020.

MANTOVANI, B. H. M. Manual Técnico Cultura do Milho: Armazenamento de Grãos. **EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo**. Sete Lagoas-MG, 2000.

MENDONÇA, J. O. O potencial de crescimento da produção de grãos no Oeste da Bahia. **Revista Bahia Agrícola.**, v.7, n.2, p. 38-46. 2018.

MEDEIROS, J. G. F. *et al.* Controle de fungos e qualidade fisiológica de sementes de soja (*Glycine max* L.) submetidas ao calor húmido. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 464-471, 2019.

MENEZES, M.; OLIVEIRA, S. M. A. Fungos Fitopatogênicos. Recife - PE: **Editora UFRPE - IMPRENSA UNIVERSITARIA**. p. 227. 1993.

MODELLI, L. Guerra expõe problemas de fertilizantes importados da Rússia. Disponível em: <https://www.dw.com/pt-br/guerra-exp%C3%B5e-problemas-de-fertilizantes-importados-da-r%C3%BAssia/a-61170951> Acesso: 10 mar. 2023.

MONTEIRO, V. N; SILVA, R. do N. Aplicações Industriais da Biotecnologia Enzimática. **Revista Processos Químicos**, 3(5), 9-23, 2009. <https://doi.org/10.19142/rpq.v3i5.83>

MORAES, A. M. L; PAES, R. A; HOLANDA, V. L; Micologia. Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde. v. 4, n. 4, p. 400-403, 2009.

MORAIS, A. C. P; *et al.* Mercado de trabalho do agronegócio nos estados brasileiros. **Revista Política Agrícola**, v. 27, n. 4, p. 82-96, 2018.

NASCIMENTO, M. C. *et al.* PROTEASES AND THEIR BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS IN THE FOOD INDUSTRIES. **Congresso internacional da Agroindustria CIAGRO**, p. 3-12. Recife-CE, 2021.

NEIROTTI, E.; AZEVEDO, J. L. Técnica semiquantitativa de avaliação da produção de celulases em *Humicola* sp. **Revista de Microbiologia**, v. 19, n. 1, p. 78-81, 1988

NETO, A. P. M. *et al.*, Análise do relacionamento entre grãos armazenados e categoria de gestão de sistemas de armazenagem no Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, e42411932060, 2022.

NUNES, J. L. S. **Soja: Armazenamento**. Agro Link. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/culturas/soja/informacoes/armazenamento_361539.html. Acesso: 12 nov. 2022.

ORLANDELLI, R. C. *et al.*, Enzimas de Interesse Industrial: Produção por Fungos e Aplicações. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, v.7, n.3, p.97-109, 2012.

OWNLEY, B.H.; GWINN, K.D.; VEGA, F.E. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. **BioControl**, v. 55, p. 113–128, 2010.

PASSOS, A. L. O; ROCHA, S. S.; HADLICH, G. M. Evolução do uso do solo e agronegócio na região oeste do Estado da Bahia. **Cadernos De Geociências**, v. 7, n.1, p. 31-37, 2010.

PATURCA, E. Y. Caracterização das estruturas de armazenagem de grãos: Um estudo de caso no Mato Grosso. **ESALQ-LOG**, p. 7-25. v.1, 2014.

PAZOLINI, K. **Agricultura: Conservação de grãos em pós-colheita**. 2019. Blog Agromove. Disponível em: <https://blog.agromove.com.br/conservacao-graos-plantio-pos-colheita/> Acesso: 12 mai. 2023.

PERLIN, R. C. O papel do Campus São Vicente do Sul do Instituto Federal Farroupilha na promoção do desenvolvimento das agroindústrias do município de Jaguari - RS. 2011. 62 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Educação Agrícola) - **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Seropédica, 2011.

POLIZELI MLTM, *et al.* Xylanases from fungi: properties and industrial applications - **Review. Applied Microbiology and Biotechnology**., v.67, p.577-591, 2005.

PRESTES, I. D. *et al.* (2019). Principais fungos e micotoxinas em grãos de milho e suas consequências. **Scientia Agropecuaria**, v.10, n. 4, p. 559-570, 2019.

QUEIROZ, C; SOUSA, A. C. B. Production of hydrolytic enzymes by filament fungi in different solid substrates. **Revista Braziliam Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 7 , p.51849-51860, 2020.

RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and molecular biology reviews: MMBR**, 62, n. 3, p. 597-635, 1998.

RAVINDRAN, R.; HASSAN, S. S.; WILLIAMS, G. A.; JAISWAL, A. K. A **Review on Bioconversion of Agro-Industrial Wastes to Industrially Important Enzymes. Bioengineering**, 5, 2018.

RIBEIRO, C. L. N *et al.* Micotoxinas encontradas em rações e alimentos utilizados na produção comercial de aves no Brasil. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 12, n. 01, p. 3910–3924, 2015.

RIBEIRO JÚNIOR, J. C. Isolamento e identificação da microbiota esporulada e fúngica associada à deterioração do leite. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) **Universidade Estadual de Londrina**. Londrina, 2015.

REGINATO, M. P *et al.*. BOAS PRÁTICAS DE ARMAZENAGEM DE GRÃOS. 8º Encontro de Ensino, Pesquisa e Extensão - UFGD. 5º **EPEX/UEMS**. Dourados, MS - 2014.

RIDDELL, R.W. Permanent stained mycological preparation obtained by slide culture. **Mycologia**, v. 42, p. 265–270, 1950.

ROCHA, M. P. *et al.*, Sistema de armazenamento e incidência dos principais fungos produtores de micotoxinas em grãos. **Revista Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 50176-50193, 2020.

RUPOLLO, G. *et al* Efeito da umidade e do período de armazenamento hermético na contaminação natural por fungos e a produção de micotoxinas em grãos de aveia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1. p. 118-125., 2006.

SANTIN, J. A. Fungos de pré e pós colheita e a qualidade de grãos de milho. 2001. 219 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia, área de concentração Fitossanidade) - **Universidade Federal do Rio**

Grande do Sul Faculdade, Porto Alegre - RS, 2001.

SANTOS, C. D. AGRONEGÓCIO E REESTRUTURAÇÃO URBANA E REGIONAL DO OESTE DA BAHIA. **Grupo de Pesquisa Globalização Agricultura e Urbanização (GLOBAL)**. Minas Gerais, 2012.

SANTOS, E. R. D. Material Complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos. Baseado no capítulo original de Paulo Antunes Horta Junior. Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na Modalidade a Distância. **Universidade Federal de Santa Catarina**. Florianópolis, 2015.

Serviço Nacional de Aprendizagem Rural - SENAR. **Grãos: armazenamento de milho, soja, feijão e café**. / Serviço Nacional de Aprendizagem Rural – Brasília, 2018.

SILVA, R. C. **Análise de Mercado: Por quê existem poucos armazéns de grãos?** Disponível em: <https://www.portaldoagronegocio.com.br/gestao-rural/analise-de-mercado/artigos/por-que-existem-poucos-armazens-de>

[graos#:~:text=Muito%20se%20deve%20ao%20fato,renda%20no%20mundo%2C%20diz%20o%20estudo](https://www.portaldoagronegocio.com.br/gestao-rural/analise-de-mercado/artigos/por-que-existem-poucos-armazens-de-graos#:~:text=Muito%20se%20deve%20ao%20fato,renda%20no%20mundo%2C%20diz%20o%20estudo). Acesso: 15 mar. 2023.

SILVA, L. C. Fungos e Micotoxinas em Grãos Armazenados. **Universidade Federal do Espírito Santo**. Espírito Santo, 2005.

SILVA, K. R.; SOUSA, S. F de; SANTANA, R. C. F. de; Biotecnologia microbiana - Volume 1. p. 118-119. – Guarujá-SP: **Científica Digital**, 2023.

SPENCER, J. F.; SPENCER, D. M. Maintenance and culture of yeasts. **Methods Mol Biol**. 53:5-15; 1996.

SUNITHA, V.; DEVI, D. N.; SRINIVAS, C. Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. **World Journal of Agricultural Sciences**, 9, n. 1, p. 01-09, 2013.

Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia (SEI). **Safra de grãos alcançou 10,5 milhões de toneladas em 2021 na Bahia**. Disponível em: https://www.sei.ba.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=3626:safra-de-graos-alcançou-10-5-milhoes-de-toneladas-em-2021-na-bahia&catid=10&Itemid=728

Acesso: 18 abr. 2023.

SOUZA, A. **Do barro ao agro: como Luís Eduardo Magalhães se tornou a capital baiana do agronegócio**. AVERA, 2019. Disponível em: < <https://noticiasavera.com.br/do-barro-ao-agro-como-luis-eduardo-magalhaes-se-tornou-a-capital-baiana-do-agronegocio/>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

SOUZA, L. E.B. *et al.*, INVESTIGAÇÃO DE FUNGOS PRODUTORES DE ENZIMAS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO. Capítulo 10 do Livro Projetos Inovadores e Produção Intelectual na Microbiologia. **Editora Atena**, p.96-104. Ponta Grossa – PR, 2020.

SOUZA, A. V. C. Valor nutricional de grãos atacados por insetos ou contaminados por micotoxinas para frangos de corte. 2003. 142 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – **Universidade Federal de Viçosa**, Viçosa-MG, 2003

SOUZA, J. C. Agronegócio e unidades de armazenamento de grãos no Tocantins. 2020. 30 f. TCC (Graduação) - Curso de Geografia, **Universidade Federal do Tocantins**, Porto Nacional, 2020.

STROBEL, G.A. *et al.* Volatile antimicrobials from *Muscodor albus*, a novel endophytic fungus. **Microbiology**, v. 147, p. 2943–2950, 2001

THAPA, S. *et al.* Biochemical Characteristics of Microbial Enzymes and Their Significance from Industrial Perspectives. **Mol Biotechnol**, 61, n. 8, p. 579-601, 2019.

TAVARES, G. R. **Armazenagem de grãos aliada à tecnologia traz inúmeros ganhos para o agronegócio**. Disponível em: <https://www.segs.com.br/mais/agro/355067-armazenagem-de-graos-aliada-a-tecnologia-traz-inumeros-ganhos-para-o-agronegocio>. Acesso: 12 mai. 2023.

TIKAMI, Í. **Como evitar grãos ardidos na cultura do milho. Equipe Agroadvance**. Disponível em: [https://agroadvance.com.br/como-evitar-graos-ardidos-na-cultura-do-milho/#:~:text=Os%20gr%C3%A3os%20ardidos%20de%20milho,que%20produzem%20toxinas%20\(micotoxinas\)](https://agroadvance.com.br/como-evitar-graos-ardidos-na-cultura-do-milho/#:~:text=Os%20gr%C3%A3os%20ardidos%20de%20milho,que%20produzem%20toxinas%20(micotoxinas)). Acesso: 17 mar. 2023.

VELOSO, C. Blog Verde Agritec: **Entenda como o conflito entre Rússia e Ucrânia afeta a agricultura brasileira**. Disponível em: <https://blog.verde.ag/noticias/entenda-como-o-conflito-entre-russia-e-ucrania-afeta-a-agricultura-brasileira/> Acesso: 29 abr. 2023.

XAVIER, A. L. S; FRANÇA, K. R. S.; CARDOSO, T. A. L. Efeito do óleo essencial de palmarosa (*Cymbopogon martinii*) sobre fungos fitopatogênicos em sementes de soja. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, 1-24, 2020

WENZEL, J. B. *et al.* ATIVIDADE ENZIMÁTICA E ANTIMICROBIANA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE SOJA. **Revista Perspectiva Online: Ciências Biológicas & Saúde**, Campos dos Goytacazes, 9(3), p. 01-15, 2013.

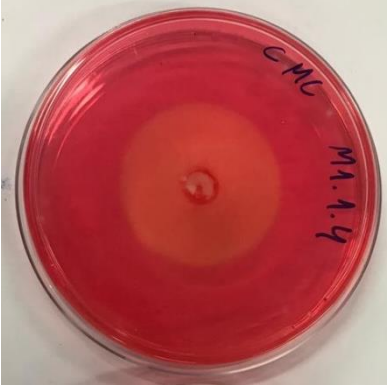
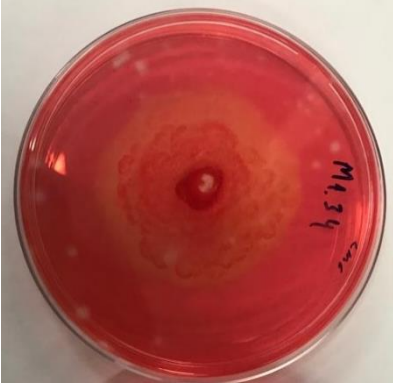
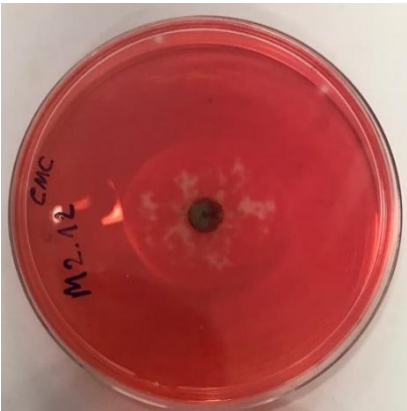
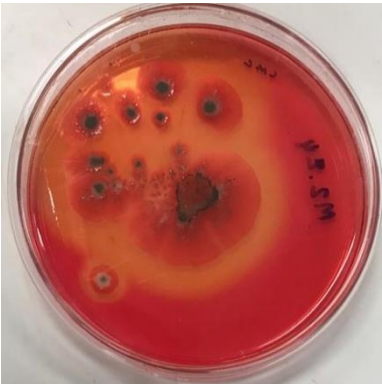
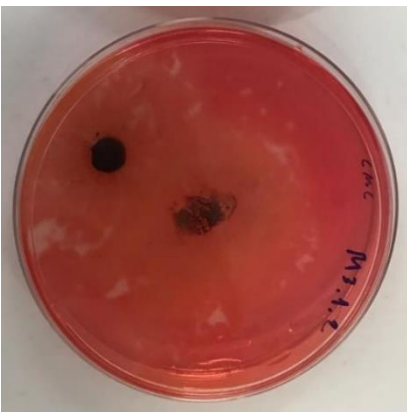
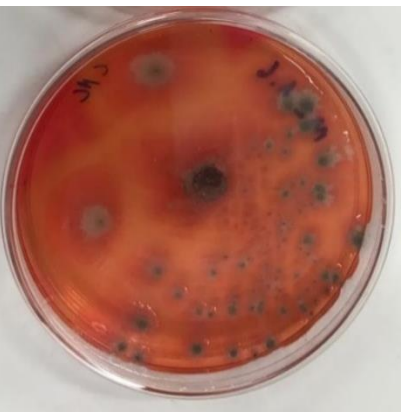
WERNECK, G. C; PRODUÇÃO DE PROTEASES POR FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE PLANTAS DO CERRADO. 2016, 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - **Universidade de Brasília**, 2016.

ZEN, F. B. Armazém graneleiro: projeto com placas pré-fabricadas de concreto. 2014, 109 f. TCC (Graduação em Engenharia Civil) **Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, RS, 2014.

ZILLI, J. E. *et al*; A cultura do feijão-caupi na Amazônia brasileira: Colheita e armazenamento de grãos e sementes. **EMBRAPA**, cap 10, p. 344. Amazônia, 2009.

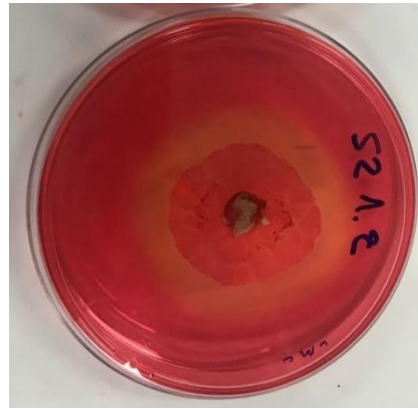
9. APÊNDICE

Fungos isolados da amostra de milho que testaram positivo e negativo para a produção de enzimas celulolíticas.

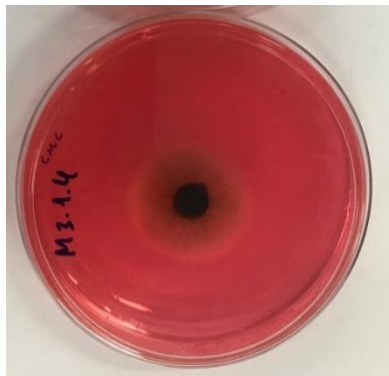
NEGATIVOS	POSITIVOS
 <p data-bbox="285 887 802 920">Isolado da mostra de milho 1 (M1.14)</p>	 <p data-bbox="911 887 1406 920">Isolado da amostra 1 milho (M1.34)</p>
 <p data-bbox="277 1361 810 1395">Isolado da amostra de milho 2 (M2.12)</p>	 <p data-bbox="911 1335 1406 1368">Isolado da amostra 2 milho (M2.34)</p>
 <p data-bbox="293 1836 794 1870">Isolado da amostra 3 milho (M3. 12)</p>	 <p data-bbox="911 1836 1406 1870">Isolado da amostra 2 milho (M2.24)</p>



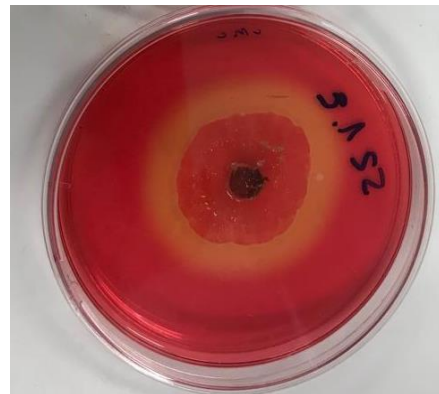
Isolado da amostra de soja 1 (S1.11)



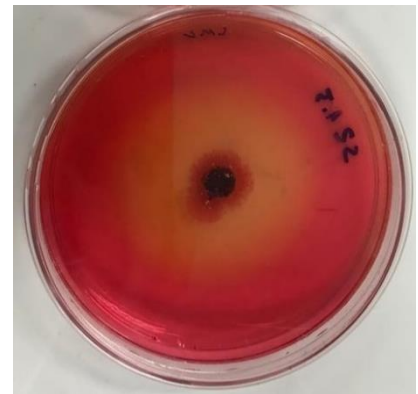
Isolado da amostra soja 2 (S2.12)



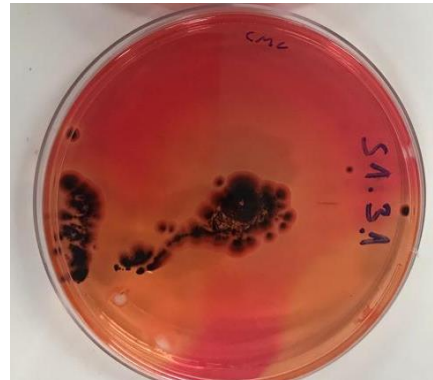
Isolado da amostra 3 milho (M3.14)



Isolado da amostra 2 soja (S2.13)








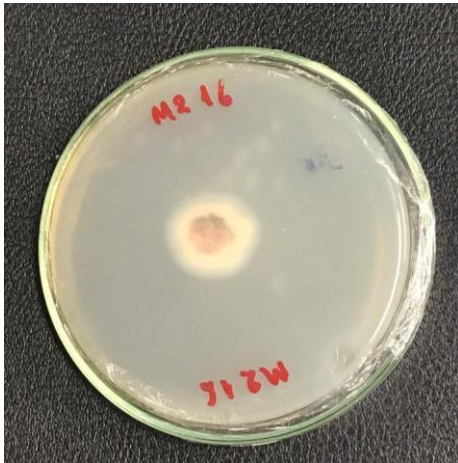
Isolado da amostra de soja 2 (S2.15)



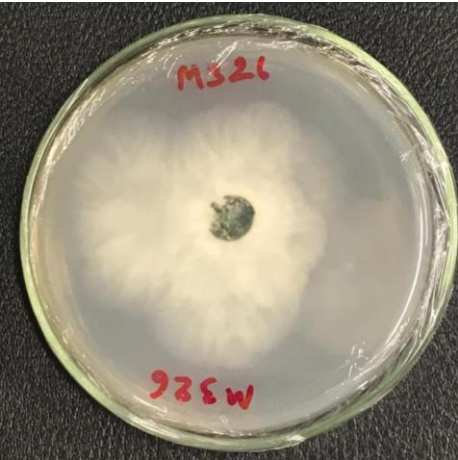
Isolado da amostra soja 1 (S1.31)

Fungos isolados da amostra de soja e milho que testaram positivo e negativo para a produção de enzimas proteolíticas.

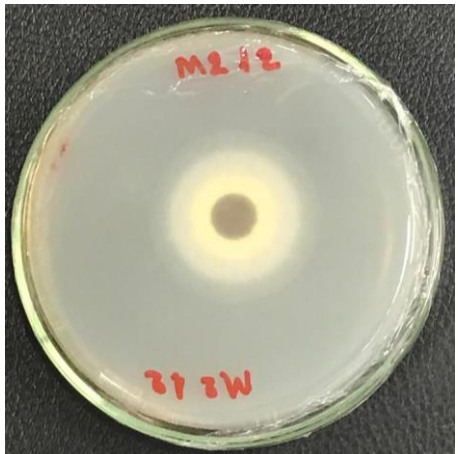
NEGATIVO	POSITIVO
 <p data-bbox="296 835 788 869">Isolado da amostra milho 1 (M1.14)</p>	 <p data-bbox="925 835 1385 869">Isolado da amostra soja 2 (S2.13)</p>
 <p data-bbox="296 1382 788 1415">Isolado da amostra milho 2 (M2.14)</p>	 <p data-bbox="925 1382 1385 1415">Isolado da amostra soja 2 (S2.12)</p>
 <p data-bbox="296 1919 788 1953">Isolado da amostra milho 1 (M1.34)</p>	



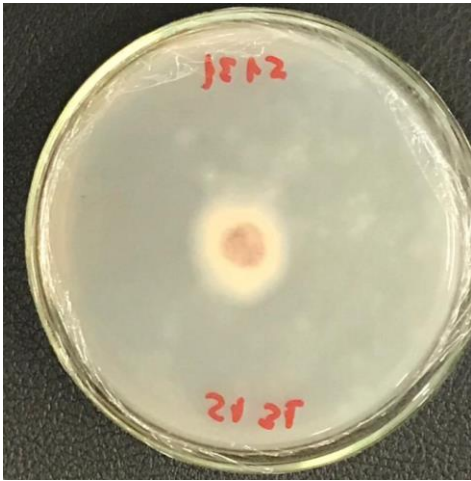
Isolado da amostra milho 2 (M2.1.6)



Isolado da amostra milho 3 (M3.2.6)



Isolado da amostra milho 2 (M2.1.2)



Isolado da amostra soja 1 (S1.3.1)



Isolado da amostra 1 soja (S1.1.1)