



NOVAS ESTRATÉGIAS DE INTEGRAÇÃO  
SUSTENTÁVEIS QUE GARANTAM A  
QUALIDADE E SEGURANÇA NA  
FILEIRA DO MILHO NACIONAL

# 11º COLÓQUIO NACIONAL DO MILHO

1º ENCONTRO DAS  
CULTURAS CEREALÍFERAS

5 de Março 2021 | Colóquio Digital

Colaboração:



Apoio:



[www.anpromis.pt](http://www.anpromis.pt)



PROGRAMA DE  
DESENVOLVIMENTO  
RURAL 2014-2020



UNIÃO EUROPEIA  
Fundo Europeu Agrícola  
de Desenvolvimento Rural  
*A Europa investe nas zonas rurais*

Orador: CARLA MOITA BRITES



REPÚBLICA  
PORTUGUESA

AGRICULTURA



Instituto Nacional de  
Investigação Agrária e  
Veterinária, I.P.



Como surgiu o GO?

Para quê que surgiu o GO?

Com que parceiros?



instituto de soldadura  
e qualidade



Instituto Nacional de  
Investigação Agrária e  
Veterinária, I.P.

+ 5 explorações agrícolas  
associadas AGROMAIS

## OBJETIVOS:

1

Identificar fungos  
potencialmente  
produtores de micotoxinas  
que ocorrem nos campos  
de milho e nos grãos  
armazenados

2

Desenvolver, testar e  
demonstrar novos  
sistemas agrícolas que  
limitem a presença dos  
fungos identificados

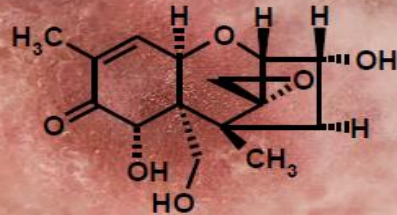
3

Implementar um sistema  
de monitorização de  
temperatura e teor de  
humidade, em todas as  
fases da cadeia de  
produção do milho

# IMPACTO DAS MICOTOXINAS

## *Micotoxinas são ...*

Contaminações com micotoxinas causam prejuízos nos EUA de 1404 milhões US\$ (CAST, Task force Report, 2003)



*Aspergillus sp.*  
*Penicillium sp.*  
*Fusarium sp.*  
.....

... metabolitos secundários **tóxicos** dos fungos

‘25% das commodities agrícolas estão contaminadas com micotoxinas’





# FASE 1

## IMPLEMENTAÇÃO E VALIDAÇÃO METODOLOGIAS

Polo INIAV de Vairão,  
Vila do Conde

### Metodologia de rastreio-imunoensaio

Fumonisin (B1+B2)  
Ocratoxina A  
Aflatoxinas (G1+G2)  
Deoxynivalenol, T2  
Aflatoxina B1  
Zearalenona



### Metodologia de confirmação - UHPLC-TOF-MS

UHPLC Nexera X2 Shimadzu acoplado a Triple TOF™ 5600+ AB Sciex

Fumonisin B1 (FB1)  
Fumonisin B2 (FB2)  
Ocratoxina A  
Aflatoxina G1, Aflatoxina G2  
T2  
Aflatoxina B1, Aflatoxina B2  
Zearalenona



Food Analytical Methods  
<https://doi.org/10.1007/s12161-019-01625-1>

Validation of a Biochip Chemiluminescent Immunoassay for Multi-Mycotoxins Screening in Maize (*Zea mays* L.)

Andreia Freitas <sup>1,2</sup> · Sílvia Barros <sup>1</sup> · Carla Brites <sup>1,3</sup> · Jorge Barbosa <sup>1,2</sup> · Ana Sanches Silva <sup>1,4</sup>

<https://doi.org/10.1007/s12161-019-01625-1>



Contents lists available at ScienceDirect

Current Research in Food Science

journal homepage: [www.editorialmanager.com/crfs/](http://www.editorialmanager.com/crfs/)

Research Paper

UHPLC-ToF-MS method for determination of multi-mycotoxins in maize: Development and validation

Ana Sanches Silva <sup>a,b,\*</sup>, Carla Brites <sup>a,d</sup>, Ana Vila Pouca <sup>a</sup>, Jorge Barbosa <sup>a,c</sup>, Andreia Freitas <sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> National Institute for Agricultural and Veterinary Research (INIAV), Rua dos Lógos, Lugar da Madalena, 4485-655 Vila do Conde, Portugal

<sup>b</sup> Center for Study in Animal Science (CECA), ICETA, University of Oporto, Oporto, Portugal

<sup>c</sup> REQUIMTE/ LAQV, Pharmacy Faculty, University of Coimbra, Azinhaga de Santa Comba, 3000-548 Coimbra, Portugal

<sup>d</sup> GREEN-IT, ITQB NOVA, Av. da República, 2780-157 Oeiras, Portugal

<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2019.07.001>



DOSSIER TÉCNICO

VIDA RURAL . junho 2019

## Micotoxinas no milho e seu controle

Carla Brites, Ana Sanches Silva, Andreia Freitas,  
Jorge Barbosa . INIAV, I.P.



Instituto Nacional de  
Investigação Agrária e  
Veterinária, I.P.

## FASE 2

# CARATERIZAÇÃO COLHEITA E PRÉ-COLHEITA

MATERIAL  
(2019)

- 24 amostras de 8 ensaios em 3 explorações do Vale do Tejo
- 3 datas de colheita: 1ª - maturidade fisiológica  
2ª - 10 dias após a 1ª  
3ª - 10 dias após a 2ª
- Amostragem de 25 espigas (5 kg)



Proceedings

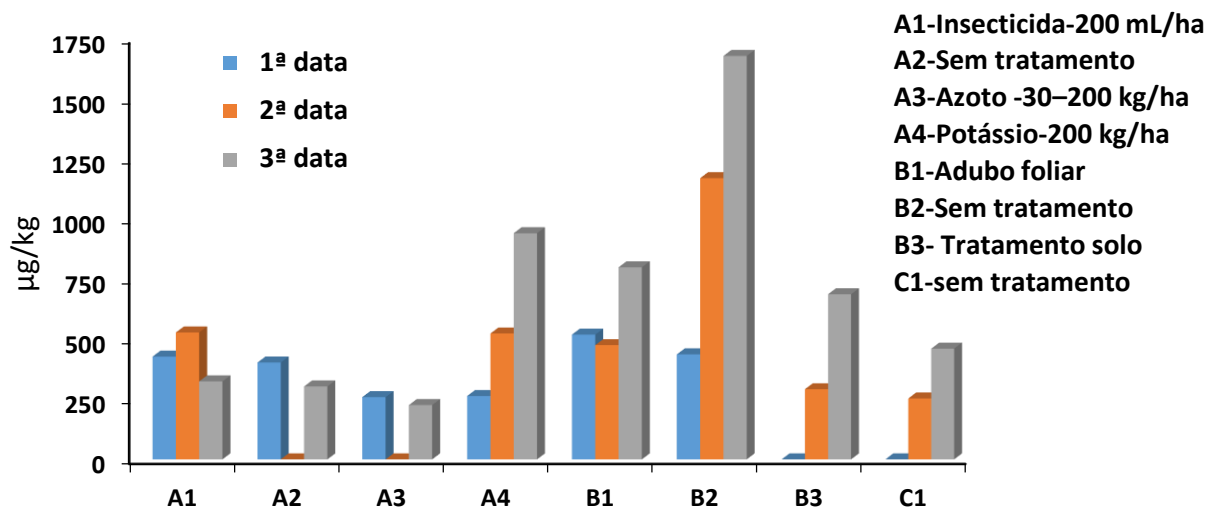
### Mycotoxin incidence in pre-harvest maize grains<sup>†</sup>

Bruna Carbas<sup>1</sup>, Andreia Soares<sup>1</sup>, Andreia Freitas<sup>1</sup>, Ana Sanches Silva<sup>1,2</sup>, Tiago Pinto<sup>3</sup>, Eugénia Andrade<sup>1</sup>, Carla Brites<sup>1,4\*</sup>

<https://www.mdpi.com/2504-3900/70/1/24/pdf>

## RESULTADOS

Total de FUM no milho recolhido em explorações da região do Vale do Tejo  
(A, B, C) em três datas de colheita



- Despiste de todas as micotoxinas validadas, apenas foram detetadas FUM (FB1, FB2)
- FB1 é a fumonisina predominante
- FUM em níveis variáveis, abaixo dos limites legais
- Valores mais altos de FUM (>1000 µg/kg) obtidos nas 2ª e 3ª datas para o ensaio que não foi tratado (B2)
- Ensaio com aplicação de azoto (A3) tem os valores mais baixos de FUM
- Maiores níveis de FUM foram obtidos na 3ª data => maior risco de contaminação em colheitas tardias

## FASE 3

# CONTROLE E MITIGAÇÃO DAS FUMONISINAS



## CAMPO

- Detecção e monitorização dos fungos (*F. verticillioides*; *F. proliferatum*)
- Aplicar tratamentos específicos
- Influência do tipo e qualidade de solo
- Antecipação da colheita

## ARMAZENAGEM

- Controle temperatura, humidade, CO<sub>2</sub>
- Aplicar tratamentos específicos

# FASE 3

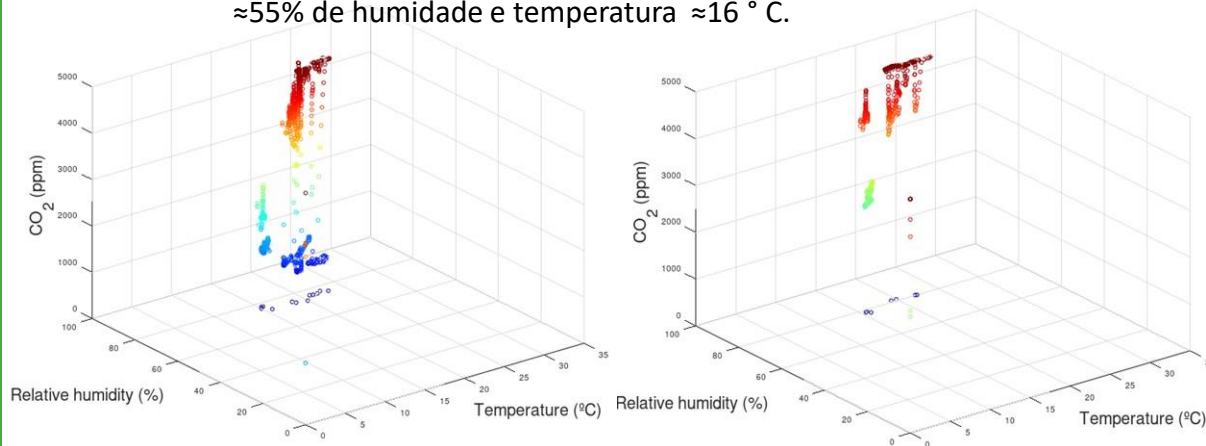
## CONTROLE E MITIGAÇÃO DAS FUMONISINAS (Campo => Armazenagem)

### MATERIAL E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

- 9 amostras colhidas em 2018 de 3 ensaios (JC3-Adubo Foliar, JC4-Testemunha, L2-Potássio) de 2 explorações do Vale do Tejo
- Armazenamento em barricas de 25kg nos silos da AGROMAIS durante 6 meses com sondas para monitorização de temperatura, humidade relativa e CO<sub>2</sub>
- Amostragem em 3 diferentes momentos (colheita, após 4 e 6 meses)
- Caracterização das espécies de *Fusarium*, determinação das micotoxinas

#### Monitorização temperatura, humidade, CO<sub>2</sub> nas barricas JC3 e JC4

Altos níveis de CO<sub>2</sub> ≈ 3000ppm foram observados com ≈55% de humidade e temperatura ≈16 ° C.



As cores indicam o nível de CO<sub>2</sub>, de vermelho (5000 ppm) a azul (0 ppm). Níveis de CO<sub>2</sub> entre 400-1000 ppm estão entre as variações ambientais aceitáveis, de 1000-2000 ppm estão num nível de alerta intermediário e >2000 ppm requerem ação a fim de se verificar a origem do CO<sub>2</sub>.



# FASE 3

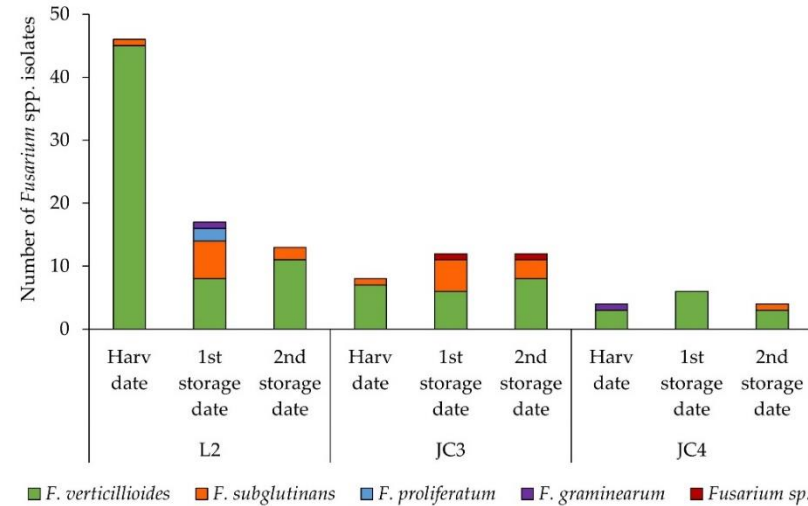
## CONTROLE E MITIGAÇÃO DAS FUMONISINAS (Campo => Armazenagem)

### RESULTADOS

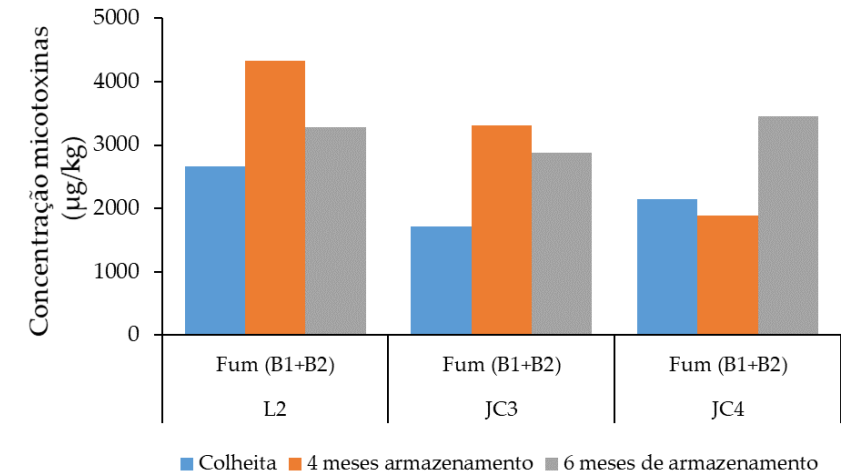


*F. verticillioides*

Distribuição das espécies de *Fusarium*



Fumonisin no milho armazenado em barricas à colheita, após 4 e 6 meses



- Apenas as FUM (FB1, FB2) foram identificadas e sempre com maior incidência da FB1 (4:1)
- Quantidades máximas de FUM foram verificadas após 4 meses de armazenamento (L2, JC3)
- Os níveis de FUM aumentaram durante o período de armazenamento em cerca de 20 a 40%
- A par do aumento de FUM também aumentaram os valores de humidade relativa, temperatura e CO<sub>2</sub> monitorizados nas barricas.



Article

#### Occurrence of *Fusarium* spp. in Maize Grain Harvested in Portugal and Accumulation of Related Mycotoxins during Storage

Bruna Carbas <sup>1,2,†</sup>, Daniela Simões <sup>1,†</sup>, Andreia Soares <sup>1</sup>, Andreia Freitas <sup>1</sup>, Bruno Ferreira <sup>3,4</sup>, Alexandre R. F. Carvalho <sup>3</sup>, Ana Sanches Silva <sup>1,5</sup>, Tiago Pinto <sup>6</sup>, Eugénio Diogo <sup>1,7</sup>, Eugénia Andrade <sup>1,8</sup> and Carla Brites <sup>1,8,\*</sup>

<https://www.mdpi.com/2304-8158/10/2/375/pdf>

# FASE 3

## CONTROLE E MITIGAÇÃO DAS FUMONISINAS

Ensaio Campo 2020 => Tratamentos específicos vs tipo e qualidade solo

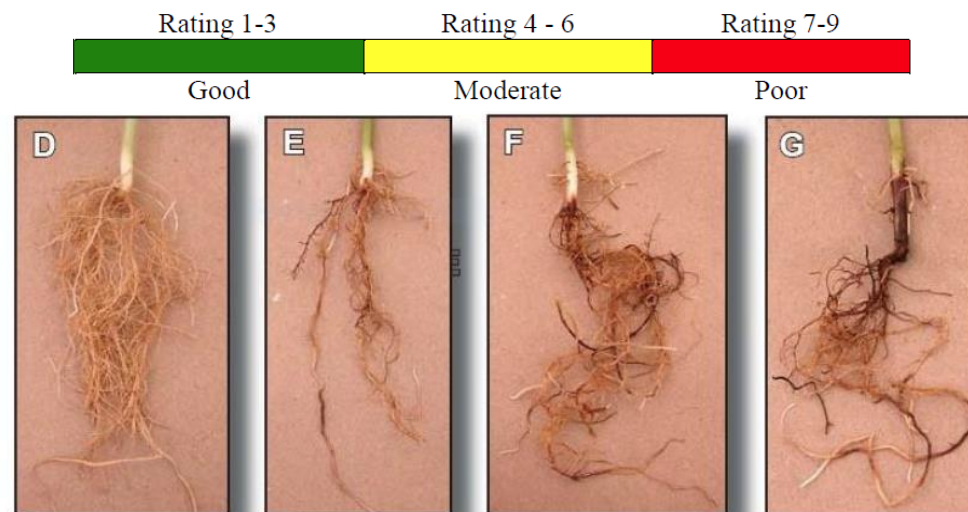
### ESTUDO DE CASO - QUINTA DA CHOLDA: DELINEAMENTO DE ENSAIO EM BLOCOS CASUALIZADOS

- 3 tratamentos: adubo foliar, tratamento solo, testemunha (3 repetições)
- 5 amostras de solos representativas da diversidade pedológica
- 4 amostras de milho recolhidas nos solos georreferenciados
- 12 amostras de milho representativas dos blocos

### ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS AOS SOLOS:

Fósforo, Potássio, Magnésio, Ferro, Manganês, Zinco, Cobre, Boro extraíveis  
Matéria Orgânica, Textura, pH (H<sub>2</sub>O).

### ANÁLISES AOS SOLOS: BIOENSAIO DAS RAÍZES DE FEIJÃO



Processamento de análises das micotoxinas (n=46) em curso, resultados serão relacionados com tratamentos e tipos de solos

## FASE 3

### ENSAIO ARMAZENAMENTO

- 11 amostras de milho armazenadas durante 8 meses em barricas nos silos da AGROMAIS
- 3 tratamentos ao grão
- 3 amostras monitorizadas com sondas de temperatura, humidade e CO<sub>2</sub>
- 5 datas de controle de micotoxinas

Processamento das análises de micotoxinas em curso, resultados serão relacionados com tratamentos ao grão e parâmetros monitorizados pelas sondas



# PRINCIPAIS CONCLUSÕES

1

Sensores para monitorizar humidade, temperatura e CO<sub>2</sub> são ferramentas úteis para alertar o incremento da atividade fúngica e acumulação de micotoxinas durante o armazenamento

2

*F. verticillioides* predomina e as fumonisinas são as principais micotoxinas presentes no milho analisado

3

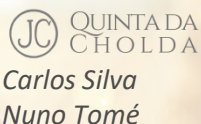
A antecipação da colheita diminui o risco de aparecimento das fumonisinas



Tiago Pinto  
Manuela Varela



Susana Covao



Carlos Silva  
Nuno Tomé



Instituto Nacional de  
Investigação Agrária e  
Veterinária, I.P.

Ana Sanches  
Andreia Freitas  
Andreia Soares  
Carla Brites  
Bruna Carbas  
Daniela Simões  
Eugénia Andrade  
Eugénio Diogo  
João Fernandes  
Jorge Barbosa  
José Semedo



instituto de soldadura  
e qualidade

António Dias  
Alexandre Carvalho  
Bruno Ferreira  
João Ribau  
Mário Lopes  
Pedro Miranda  
Ricardo Coimbra  
Sílvia Vara

# 11º COLÓQUIO NACIONAL DO MILHO

## 1º ENCONTRO DAS CULTURAS CEREALÍFERAS

5 de Março 2021 | Colóquio Digital



anpromis  
associação nacional dos produtores de milho e sorgo

Colaboração:



Apoio:



PROGRAMA DE  
DESENVOLVIMENTO  
RURAL 2014-2020



UNIÃO EUROPEIA

Fundo Europeu Agrícola  
de Desenvolvimento Rural

A Europa investe nas zonas rurais

Agradecimento:

**Green-it**  
Bioresources4Sustainability

# OBRIGADA PELA ATENÇÃO