



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FELIPE PEDOTE FRACALOSSI

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E MOLIBDÊNICA NA
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONTAMINAÇÃO POR
DESOXINIVALENOL EM TRIGO**

Londrina
2017

FELIPE PEDOTE FRACALOSSI

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E MOLIBDÊNICA NA
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONTAMINAÇÃO POR
DESOXINIVALENOL EM TRIGO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina como cumprimento às exigências para obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Wilma Aparecida Spinosa

Co-orientador: Prof. Dr. Douglas Fernandes Barbin

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Fracalossi, Felipe Pedote.

Adubação nitrogenada e molibdênica na composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo / Felipe Pedote Fracalossi. - Londrina, 2017.
102 f. : il.

Orientador: Elisa Yoko Hirooka.

Coorientador: Douglas Fernandes Barbin.

Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2017.
Inclui bibliografia.

1. Alimentos - Contaminação - Tese. 2. Micotoxinas - Tese. 3. Trigo - Adubação - Tese. I. Hirooka, Elisa Yoko. II. Barbin, Douglas Fernandes. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

FELIPE PEDOTE FRACALOSSI

**ADUBAÇÃO NITROGENADA E MOLIBDÊNICA NA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA E CONTAMINAÇÃO POR DESOXINIVALENOL EM TRIGO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina como cumprimento às exigências para obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Wilma Aparecida
Spinosa
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Elisa Yoko Hirooka
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Claudemir Zucareli
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Dr. André Lasmar
Ministério Público Federal – MPF

Londrina, 18 de abril de 2017.

À Deus, por ter me dado forças em cada desafio encontrado.

Aos meus pais, Ricardo Cavallini Fracalossi e Silvia Maria Pedote Fracalossi pela paciência, amor, compreensão e força.

Ao meu irmão Giovani Pedote Fracalossi, pela amizade, companheirismo e momentos de descontração.

À minha namorada Thais Facio Gregório, pelo companheirismo, amor e apoio.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Elisa Yoko Hirooka pela oportunidade da realização desse trabalho, confiança, auxílio em todos os momentos e orientação;

Ao Prof. Dr. Douglas F. Barbin pela coorientação, ajuda e correções.

Ao Prof. Dr. Claudemir Zucareli pela ajuda, conselhos e amizade.

Ao Prof. Dr. Osamu Kawamura, *Kagawa University*, Japão, por ter cedido o anticorpo monoclonal anti-DON (produzido por hibridoma anti-DON.3).

Ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos e aos Professores do Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos, pelos ensinamentos e colaboração durante o desenvolvimento do curso de Mestrado;

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa durante o Mestrado e, *Japan Students Services Organization - JASSO* através de *Short Stay - SS Program* em *Kagawa University-JP*. À Rede Nanobiotec-Brasil, CAPES, CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Pesquisa, e JICA - *Japan International Cooperation Agency* pelo apoio concedido para andamento do trabalho, assim como financiamento aos projetos.

Aos funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos desta Instituição. Aos estagiários(as), pela colaboração, amizade e descontração.

Aos colegas de trabalho e amigos Cássia Reika Takabayashi Yamashita, Angélica Tieme Ishikawa, Livia Montanheiro Médici Zanin, Mariana Assis de Queiroz Cancian, André Ribeiro da Silva, Gervásio Hitoshi Saito, Fábio Junior Rodrigues, Humberto Vinícius Faria da Cunha, Beatriz Bruniera, Maria Thereza Carlos Fernandes e Thais Marques Amorim Umbelino pelo auxílio, colaboração, amizade e momentos de descontração.

Aos meus amigos João Pedro Silvestre e Guilherme Bavia, Dimitri Nicolau Brauco, Guilherme Tanaka, Guilherme Ari Oliveira, Gustavo Introvini Haab Felipe Garves, João Vinícius Zucarelli, Felipe Alvares Spagnuolo pela colaboração, amizade e momentos de descontração.

“Cuide, cultive, queira o bem. O resto vem. “

Caio Fernando Abreu

FRACALOSSI, Felipe Pedote. **Adubação nitrogenada e molibdênica na composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo**. 2017 . 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é o cereal mais cultivado no mundo, cuja cadeia produtiva, industrial e comercial exige alta produtividade aliada à qualidade nutricional, tecnológica e segurança de alimentos. O nitrogênio (N) é um macronutriente essencial ao trigo pela elevada demanda em todo o ciclo produtivo. Soma-se ao fato, a importância de molibdênio (Mo), fundamental ao crescimento de planta, especialmente as exigentes em N, pela relação direta com o metabolismo de N. A nutrição vegetal conferida pela adubação interfere na composição química/ qualidade nutricional e na sanidade de trigo, com relevância à fusariose causada por espécies do complexo *Fusarium graminearum*. Além de dano à cultura, salienta-se o perigo de ocorrência de micotoxina em grão infectado, tornando o manejo desde o campo essencial ao controle. O trabalho avaliou a composição química e contaminação por micotoxina desoxinivalenol em trigo submetido à adubação nitrogenada (sulfato de amônio aplicado em cobertura) com ou sem complementação de molibdênio (Mo, molibdato de potássio em adubação foliar) empregando método rápido para direcionar a produção com qualidade e segurança do alimento. As cultivares utilizadas consistiram de CD 150 e QUARTZO, oriundas de duas safras (2013 e 2014) e delineamento em blocos casualizados, disposto em esquema fatorial 4x2 (0, 30, 60 e 90 kg.ha⁻¹ de N sem Mo e 0, 30, 60 e 90 kg.ha⁻¹ de N com 60 g.ha⁻¹de Mo), avaliado em triplicata. A análise de contaminação por micotoxina focou-se em desoxinivalenol-DON empregando imunoensaio icELISA competitivo indireto; para a composição química (umidade, atividade de água, proteína, lipídios, cinzas e carboidratos totais) procedeu-se o método convencional comparado à técnica física não-invasiva/não-destrutiva (espectroscopia – NIR, near infrared reflectance). O ensaio icELISA desenvolvido e validado apresentou linearidade adequada com R²=0,9975, limite de detecção (LD) de 239,62 µg.Kg⁻¹ e quantificação (LQ) de 365,79 µg.Kg⁻¹ para cultivar QUARTZO e LD de 254,01 µg.Kg⁻¹ e LQ de 422,89 µg.Kg⁻¹ para cultivar CD150, com taxa de recuperação de 93 a 101% (média=97%; DON adicionado entre 500 a 1500 µg.Kg⁻¹) e CV máximo=8%. Referente à modelagem NIRS, a melhor predição perante conteúdo de lipídio, cinza e carboidrato ocorreram com a modelagem PCR (Regressão dos componentes principais) e para o teor de proteína, modelagem PLS (Regressão dos mínimos quadrados parciais) com R²>0,50 variando de 0,52 a 0,76, sendo dependente de componentes em análise. A adubação nitrogenada diminuiu o teor de carboidrato total em cultivar CD150 (-4%) e QUARTZO (-5%) em ambas as safras; o inverso ocorreu com o teor de proteína, seja em cultivar CD150 (+26% em 2013; +31%, 2014) como cultivar QUARTZO (+35% em 2013; +30%, 2014) (p<0,05). O molibdênio adicional na adubação de cobertura elevou o teor de proteína em cultivar CD150 (+11%) e QUARTZO (+6%) na safra 2013, mas reduziu o teor de carboidrato em cultivar CD150, safra 2013 (-2%) (p<0,05). Comparando os dados de modelagem PCR e PLS/NIR com as técnicas da AOAC, a diferença foi não-significativa (p>0.05), com a espectrometria NIR apresentando 85% de semelhança

na determinação de proteína e cinza; 100% para, lipídeos e carboidratos totais ($p < 0,05$), demonstrando potencial de aplicação em análise composicional rápida em farinha de trigo. O imunoensaio icELISA desenvolvido detectou DON em nível superior ao LD em 30,20% das amostras, enquanto 12,5% apresentaram-se $>LQ$. Não obstante, nenhuma amostra apresentou contaminação de DON acima do limite máximo de $750 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ estabelecido pela legislação Brasileira - Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, Ministério da Saúde-Brasil. Os métodos rápidos - icELISA e NIR – indicaram que o manejo através de N e Mo na adubação influíram diretamente no aumento do teor de proteína em trigo, podendo refletir indiretamente na contaminação por DON. O ic-ELISA desenvolvido consistiu em ferramenta rápida visando vasto monitoramento (análise simultânea de 15 a 24 amostras em triplicata numa única microplaca), e segurança da cadeia produtiva de trigo, contribuindo para a redução de perigo oriundo de fusariotoxinas.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L. Desoxinivalenol. Nitrogênio. Molibidênio ELISA. NIR.

FRACALOSSI, Felipe Pedote. **Nitrogen and molybdenum fertilization in chemical composition and deoxynivalenol contamination in wheat.** 2017. 102 p. Dissertation (Master's Degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is the most important cereal in the world, whose productive, industrial and commercial chain demands high productivity with nutritional quality, technology and food safety. Nitrogen is an essential macronutrient to wheat due to high demand throughout the production cycle. In addition, the micronutrient molybdenum (Mo) - fundamental to plant growth - is directly related to the metabolism of N, especially to the N-demanding. The plant nutrition conferred by fertilization can influence the chemical composition, the nutritional quality and diseases of wheat like Fusarium Head Blight (FHB) caused by *Fusarium graminearum* species complex. In addition to crop damage, there are mycotoxins can infect the grains and reducing the quality, making management from the field essential to control. The objective of this work was to evaluate the chemical composition and deoxynivalenol contamination in wheat submitted to nitrogen fertilization (ammonium sulphate applied in the cover) with or without complementation of molybdenum (Mo, potassium molybdate in leaf fertilization) using a rapid method to direct the wheat production with quality and food safety. The experimental design was conducted in randomized block, with factorial scheme 4x2 (0, 30, 60 and 90 kg.ha⁻¹ of N without Mo and 0, 30, 60 and 90 kg.ha⁻¹ of N with 60 g.ha⁻¹ of Mo) during two years of experiment (2013 e 2014), with two cultivars (CD 150 and QUARTZO) and analyzing in triplicate. The analysis of mycotoxin contamination was focused on deoxynivalenol-DON using indirect competitive icELISA immunoassay; for the chemical composition (moisture, water activity, protein, lipids, ashes and total carbohydrates) was using the conventional method compared to the non-invasive / non-destructive physical technique (NIR - near infrared reflectance). The developed and validated icELISA assay showed adequate linearity at R²= 0.9975, limit of detection (LOD) of 239.62 µg.Kg⁻¹ and limit of quantification (LOQ) of 365.79 µg.Kg⁻¹ to QUARTZO variety and LOD Of 254.01 µg.Kg⁻¹ and LOQ of 422.89 µg.Kg⁻¹ to CD150 variety, with a recovery rate from 93 to 101% (mean = 97%; DON added between 500 to 1500 µg.Kg⁻¹) and maximum CV = 8%. Concerning NIRS model, the best prediction for lipid, ash and carbohydrate was obtained by PCR model (regression of the main components) and for protein by PLS model (partial least squares regression) with R²> 0.50 varying from 0.52 to 0.76, being dependent on the components on analysis. Nitrogen fertilization decreased the total carbohydrate content in cultivars CD150 (-4%) and QUARTZO (-5%) in both crops (2013 and 2014); the inverse occurred with protein content in both cultivars – CD105 (+26% in 2013; +31%, in 2014) QUARTZO (+ 35% in 2013, + 30%, 2014) (p<0.05). The effect of additional molybdenum on cover fertilization increased the protein content in cultivar CD150 (+ 11%) and QUARTZO (+ 6%) in the 2013 crop, but reduced the carbohydrate content in cultivar CD150, crop 2013 (-2%), (p<0.05). Comparing the datas of PCR model and PLS/NIR model with the AOAC techniques the difference was non-significant (p>0.05), with NIR spectrometry presenting 85% similarity in protein and ash determination; 100% for lipids and total carbohydrates

($p < 0.05$), demonstrating a high potential of application of rapid compositional analysis in wheat flour. The icLELISA developed detected DON at a higher level than LOD in 30.20% of the samples, while 12.5% presented $>LOQ$. Nevertheless, no sample had DON contamination above the maximum limit of $750 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ established by Brazilian legislation – Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA, Health Ministry - Brazil. The rapid methods - icELISA and NIR - indicated that N and Mo in fertilization management influenced the protein increase in wheat and can influence indirectly in DON contamination. The developed icELISA consisted of a rapid tool for extensive monitoring (simultaneous analysis from 15 to 24 samples in triplicate on a single microplate) and food safety in wheat production chain, contributing to the reduction of DON in wheat grains.

Key words: *Triticum aestivum* L. DON. Nitrogen. Molybdenum. ELISA. NIR.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura química de desoxinivalenol.....	44
Figura 2 – Esquema de ELISA (<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>) competitivo indireto	47
Figura 3 – Fluxograma geral do experimento.....	51
Figura 4 – Condição climática (temperatura média e precipitação pluvial) durante o ciclo de 126 dias (Maio a Setembro no ano 2013 e 2014) região de Londrina-PR.....	78
Figura 5 – Teor de proteína em trigo cultivar CD150 e QUARTZO em resposta à doses de nitrogênio em cobertura, Londrina-PR	79
Figura 6 – Teor de carboidrato em trigo cultivar CD150 e QUARTZO em resposta à doses de nitrogênio em cobertura, Londrina-PR	80
Figura 7 – Análise por espectrometria NIR: Espectro do conjunto de calibração em farinha integral obtida dos grãos de trigo sob tratamento de adubação N-Mo em cobertura.....	81
Figura 8 – Validação dos modelos de predição com coeficiente de determinação de validação (R^2) e erro padrão de predição (SEP) para (a) proteína (1376-1538 nm), (b) carboidratos (1990 - 2050 nm),(c) lipídeos (1880 – 1930 nm) e (d) cinzas (1990 - 2050 nm).....	82
Figura 9 – Comparativo de resultados de NIR e análise bromatológica oficial (AOAC) de 30 amostras validadas.....	83
Figura 10 – Curva padrão para análise de DON por ic-ELISA	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química de grão de trigo integral e respectivas frações	36
Tabela 2 – Limite máximo tolerado (LMT) para DON em alimento brasileiro.....	45
Tabela 3 – Análises químicas do solo da área experimental - anterior a semeadura de trigo em safra 2013 e 2014.....	71
Tabela 4 – Análise de variância (Valor p) – Atividade de água, Umidade, Proteína, Lipídeo, Cinza e Carboidrato em trigo cultivar CD 150 e QUARTZO, em resposta a nitrogênio (N) e molibdênio (Mo) em cobertura, safras 2013 e 2014	72
Tabela 5 – Trigo cultivar CD150: Atividade de água e composição química em resposta ao nitrogênio (N) e molibdênio (Mo) em cobertura, safras 2013 e 2014.....	73
Tabela 6 – Trigo cultivar QUARTZO: Atividade de água e composição química em resposta ao nitrogênio (N) e molibdênio (Mo) em cobertura, safras 2013 e 2014	74
Tabela 7 – Modelos preditivos e respectivos coeficientes de determinação (R ²) e erro padrão de calibração (SEC).....	75
Tabela 8 – Principais variáveis selecionadas para análise de agrupamento com relação à maior variância entre os valores de refletância difusa dos espectros NIR em trigo (farinha integral)	75
Tabela 9 – Padronização de ic-ELISA: recuperação de DON em grão de trigo integral	76
Tabela 10 – Trigo cultivar CD150: contaminação por DON, safras 2013 e 2014.....	76
Tabela 11 – Trigo cultivar QUARTZO: contaminação por DON, safras 2013 e 2014	76
Tabela 12 – Análise de DON por ic-ELISA em trigo cultivar CD150 em resposta à dose de nitrogênio em cobertura com e sem Molibdênio.....	77
Tabela 13 – Análise de DON por ic-ELISA em trigo cultivar QUARTZO em resposta à doses de nitrogênio em cobertura com e sem Molibdênio.....	77

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVO	17
2.1	OBJETIVOS GERAIS	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3	REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1	ASPECTOS CULTURAIS E ECONÔMICOS DO TRIGO	18
3.2	ADUBAÇÃO NO TRIGO	21
3.2.1	Adubação nitrogenada	24
3.2.2	Adubação com micronutrientes	30
3.2.2.1	Adubação com molibidênio	32
3.3	COMPOSIÇÃO FÍSICO- QUÍMICA DO TRIGO	35
3.4	MÉTODO NIR PARA DETERMINAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	38
3.5	FUSARIOSE NO TRIGO	39
3.6	CONTAMINAÇÃO POR DESOXINIVALENOL NO TRIGO	42
3.7	MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE DESOXINIVALENOL	46
4	MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1	MATERIAL	49
4.1.1	Localização e Caracterização do Experimento	49
4.1.2	Cultivares de Trigo.....	50
4.1.3	Delineamento Experimental	50
4.1.4	Procedimento Operacional.....	51
4.2	MÉTODOS	52
4.2.1	Análises Físico-Químicas	52
4.2.1.1	Umidade.....	52
4.2.1.2	Atividade de Água.....	52
4.2.1.3	Proteínas.....	52

4.2.1.4	Lipídeos.....	53
4.2.1.5	Cinzas	54
4.2.1.6	Carboidrato Total.....	54
4.2.1.7	Aquisição dos espectros Vis-NIR	54
4.2.2	Determinação de Desoxinivalenol - DON5	55
4.2.2.1	Calibração de padrão	55
4.2.2.2	Teste recuperação.....	56
4.2.2.3	ELISA - competitivo indireto	56
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1	EFEITO DE ADUBAÇÃO N-MO NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA	60
5.1.1	Análise Bromatológica.....	60
5.1.2	ANÁLISE POR NIR	63
5.1.2.1	Pré-tratamento espectral	63
5.1.2.2	Modelos Preditivos	64
5.1.2.3	Validação do Modelo	64
5.2	EFEITO DE ADUBAÇÃO N-MO NA CONTAMINAÇÃO POR DON	65
6	CONCLUSÃO	70
	REFERÊNCIAS.....	84

1 INTRODUÇÃO

O trigo é uma das primeiras culturas domesticadas na produção de alimento, destacando-se entre os cereais mais cultivados e consumidos no mundo. Embora o Brasil não se classifique entre os principais produtores a exemplo de União Europeia, China, Índia, Estados Unidos e Rússia, é um exímio consumidor / importador, sendo a região Sul a principal produtora, com maior produção no Estado do Paraná. O potencial produtivo e a qualidade de trigo brasileiro deve ser melhor explorado visando autossuficiência. O melhoramento genético aliado ao manejo sustentável são requisitos essenciais à produção em campo capaz de contemplar produtividade, qualidade e segurança de alimentos.

Em relação ao manejo nutricional, o macronutriente nitrogênio (N) na planta é relevante pela elevada demanda, participando ativamente na bioquímica de componentes essenciais como clorofila, proteína, enzima, coenzima, ácido nucleico, ATP, NADH, NADPH, fitocromos e bioativos. O excesso de N provoca acamamento da planta, enquanto a deficiência reduz os componentes da produção, altera rotas metabólicas e, conseqüente composição do grão. Os nutrientes classificados como essenciais constituem componentes de sistemas enzimáticos, sendo importante o equilíbrio metabólico entre micro-macronutriente. A assimilação do último depende diretamente de micronutrientes constituintes de grupo prostéticos em enzima.

A deficiência de um macronutriente pode decorrer da falta de micronutriente. A relação vantajosa entre nitrogênio e molibdênio advém da interpelação entre ambos no processo metabólico, i.e., ação de um macronutriente potencializado por micronutriente. O Mo participa em diversas enzimas catalizadoras do processo de transporte de elétron, assim como na nitrato redutase, essencial à assimilação de N, especialmente em vegetais exigentes em N como o trigo.

O N suplementar na adubação também está relacionado à incidência de doenças. Dentre as doenças que atacam o trigo, a fusariose é uma das principais. Denominada de giberela (*Fusarium head blight* ou *Scab*), causada por fungos do complexo *Fusarium graminearum* (Teleomorph *Giberela zeae* Sch.) a fusariose é considerada como doença de destaque na região tritícola do Sul do Brasil. A doença decorre de condições climáticas, práticas culturais e susceptibilidade das cultivares. Além de dano à produtividade, os grãos infectados constituem substrato ideal para produção de micotoxinas - fusariotoxinas, a exemplo

de Desoxinivalenol (DON ou vomitoxina) pertencente ao grupo “B” de tricotecenos, capaz de contaminar diversos produtos oriundos da cadeia produtiva de trigo. DON é tóxico ao homem e animais, cuja ingestão pode causar efeito anorexígeno, além de provocar danos gastrointestinais, vômito e diarreia.

A distribuição já desuniforme de DON, assim como composição química de grão, pode variar conforme condição ambiental. A composição bromatológica quantitativa em grão é definida pelas condições de cultivo e, influenciadas conforme disponibilidade nutritiva no solo. Assim, a adubação nitrogenada acoplada à molibidênica poderia resultar em efeito positivo na composição de grão, sendo ainda desconhecida a repercussão na contaminação por micotoxinas na farinha produzida.

Os métodos rápidos, seja perante determinação da composição bromatológica ou triagem da contaminação por micotoxinas, são ferramentas de monitoramento de baixo custo, pouca mão-de-obra e uso fácil para obter resultado imediato. Alternativas mais rápidas são primordiais no direcionamento de decisões ao nível de desenvolvimento e caracterização de cultivares, manejo sustentável, sistemas de processamento agroindustrial, controle de qualidade e segurança alimentar além de proporcionar competitividade na indústria de alimentos e rações.

O desenvolvimento nacional de ensaio imunoenzimático (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* - ELISA) destaca-se entre os métodos rápidos destinados à detecção de toxinas naturais ao nível de nanograma. A tecnologia minimiza a dependência de importação de *kits*, do uso de solventes tóxicos, do tempo e custo de análise de alimentos, sendo essencial para averiguar matéria-prima contaminada seja no campo como no sistema de processamento alimentar. Em adição, a análise por método físico rápido e não destrutivo NIR (*near infrared reflectance*) permitiria maior eficiência - rapidez na análise bromatológica de alimentos.

O trabalho teve como objetivo avaliar a composição química e a contaminação por desoxinivalenol em farinha de trigo cultivado sob adubação nitrogenada associada à molibidênica. Em paralelo, avaliar duas cultivares de diferentes classificações comerciais e a utilização de métodos rápidos na determinação de desoxinivalenol (ic- ELISA) e na composição química (NIR) visando direcionar uma produção com qualidade e segurança.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a composição química e contaminação por DON em farinha de trigo proveniente de cultivo submetido à adubação nitrogenada com ou sem complementação de molibdênio, empregando método rápido visando direcionar a produção com qualidade e segurança.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as respostas de duas diferentes cultivares de trigo (CD 150 e QUARTZO);
- Desenvolver / validar ao nível intralaboratorial / aplicar imunoensaio icELISA empregando anticorpo monoclonal produzido no Laboratório para análise de DON em trigo;
- Avaliar a utilização e eficiência de técnica física não-invasiva / não-destrutiva (espectroscopia – NIR, *near infrared reflectance*) em comparação ao método bromatológico convencional para análise de composição química da farinha de trigo.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ASPECTOS CULTURAIS E ECONÔMICOS DO TRIGO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é o principal cereal utilizado na alimentação humana, cuja cadeia produtiva exige alta produtividade aliada à qualidade nutricional, tecnológica e segurança do alimento. Em termos de relevância da cultura, é considerado o cereal mais cultivado no mundo e o segundo maior em produção (CONAB, 2016).

O trigo é uma lavoura de inverno de ampla distribuição geográfica (ou de cultivo disperso), cultivado em latitude alta (acima dos 24° lat. N e S), concentrada em Hemisfério Norte. A maior participação, dentre os principais países produtores de trigo são explicadas, em parte, pela extensão territorial e localização em região propícia ao cultivo (CUNHA, 2009). O cereal ocupa mais de 17% da terra cultivável no mundo, com produção aproximada de 30% de grãos (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016) e, área média anual aproximada de 220 milhões (mi) de hectares (ha) e consumo mundial médio de 698 mi t entre 2012 e 2016 (USDA, 2016). União Europeia, China, Índia, Rússia e EUA se enquadram entre principais consumidores de trigo em 2016/2017 com participação de 17,5%, 15,8%, 13,0%, 5,3% e 4,8%, respectivamente (USDA, 2016).

Com rendimento médio superior a 3.200 kg ha⁻¹ de grãos, a produção mundial superou os 700 mi de toneladas (t) a partir de 2013/2014, atingindo 734 mi de t na safra 2015/2016. A produção mundial de trigo concentra-se nos continentes asiático e europeu, sendo que os blocos produtores União Europeia, China, Índia, EUA e Rússia foram responsáveis por mais de 60% da produção entre 2012-2016, com destaque a China e Índia com 30,4 % e 22,1%, respectivamente. A produção brasileira corresponde apenas a 0,75% do total produzido. Cabe ressaltar a preferência no Hemisfério Norte por genótipos invernais de ciclo longo e semeados no outono, com maior potencial de rendimento, devido ao maior período de acumulação de reservas na fase vegetativa. Os genótipos brasileiros são primaveris de menor ciclo de cultivo, com menor tempo para acúmulo de reservas e potencial de rendimento (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016).

Rússia, EUA, União Europeia, Canadá e Austrália representam os principais exportadores de trigo em 2016/2017. Egito, Indonésia, Argélia, Japão, União Europeia e Brasil representam os principais importadores de trigo em 2016/2017 com participação de 6,9%, 5,1 %, 4,8%, 4,0%, 3,8% e 3,8%, respectivamente. Houve acréscimo da participação brasileira na importação de trigo entre 2015/2016 e 2016/2017 de 3,4% para 3,8 %, se igualando à União Europeia em 2017 (USDA, 2016).

Embora o Brasil participe no grupo importador de trigo, também se destaca entre países exportadores, com importação de 5,950 mi t contrastando com exportação de 0,7 mi t em 2016. A importação tem em origem a Argentina com 73,8%, seguida de 10,9% de Paraguai, 8,7% dos Estados Unidos e 6,1% de Uruguai; Argentina, ainda que seja a principal fornecedora de trigo ao Brasil, denota-se redução na participação (CONAB, 2016).

A área cultivada do cereal no Brasil reduziu de 2,449 mi ha em 2015 para 2,118 mi ha em 2016, indicando decréscimo de 13,5%, provavelmente devido ao custo de produção e competição por melhores preços de venda com o milho cultivado no inverno. Mesmo com essa redução considerável, houve aumento de produção de 21% entre as safras de 2015 e 2016; 6,727 mi t na safra de 2016, em relação a 5,535 mi t em 2015. A redução de área cultivada junto ao aumento na produção se explica pelo aumento de produtividade em 40% no ano de 2016 em relação a 2015; 3175 kg.ha⁻¹ na safra de 2016, em relação a 2260 kg.ha⁻¹ em 2015 (CONAB, 2017).

A semeadura do trigo brasileiro concentra-se em maio-julho, com a colheita em setembro-novembro. A região Sul destaca-se pela maior produção, respondendo por mais de 90% do total nacional (CONAB, 2016). O clima frio exigido pela cultura e desenvolvimento de cultivares adaptadas explicam a predominância em áreas situadas abaixo de paralelo 24 do Brasil - Trópico de Capricórnio (CUNHA, 2009).

O trigo brasileiro predomina nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, com produção nacional de 90,9%, 7,5% e 1,6 % respectivamente (CONAB, 2016). Atualmente, o estado do Paraná é o principal produtor de trigo, com 3,411 mi t em 2016, se distanciando do segundo produtor, o Rio Grande do Sul com 2,497 mi t na mesma safra. Outrossim, o Paraná com 3.140 kg.ha⁻¹ produtividade inferior à média nacional de 3.175 kg.ha⁻¹. O estado registrou redução de área cultivada em

23,3%; 1,339 mi ha em 2015 para 1,086 mi ha em 2016, e acréscimo de produtividade em 25% no ano 2016 em relação a 2015; 3140 kg.ha⁻¹ na safra de 2016, em relação a 2506 kg.ha⁻¹ em 2015, semelhante ao ocorrido em âmbito nacional (CONAB, 2017).

A produtividade média observada na cultura do trigo no Brasil é baixa e variável de ano para ano, havendo a possibilidade de altos rendimentos quando são seguidas as recomendações da pesquisa no que diz respeito à seleção de cultivares adaptadas ao local de cultivo, às práticas adequadas de semeadura, ao controle fitossanitário e, principalmente, ao manejo químico do solo e da planta (FORNASIERI FILHO, 2008).

Ao longo da triticultura brasileira, a contribuição de melhoramento foi decisiva na expansão do cultivo por meio do desenvolvimento de cultivares com melhor característica agrônômica, fitossanitária e industrial. Além disso, a regulamentação na comercialização de trigo no Brasil, com ênfase à classificação comercial tem influência crucial no desenvolvimento do cereal no país (CUNHA, 2009). Práticas de manejo capaz de otimizar os insumos aplicados poderia contribuir no aumento da produtividade do trigo.

O cultivo de trigo deve ser antecedido por planejamento utilizando conjunto de técnicas para atingir elevado potencial produtivo e qualidade, incluindo: manejo e uso adequado do solo; escolha de cultivares recomendadas, em função das condições de cultivo e das exigências do mercado; preferencialmente, semear mais de uma cultivar; escalonar semeadura em diferentes datas, dentro da época recomendada; utilizar sementes de boa qualidade genética, física, fisiológica e sanitária; aplicar corretivos e fertilizantes em doses e momento adequado, com base na análise de solo e exigências específicas da cultura; controle adequado e oportuno de insetos-pragas e de doenças; utilização correta das recomendações indicadas pela pesquisa (FORNASIERI FILHO, 2008).

O trigo apresenta importância no tocante à promoção da sustentabilidade na agricultura. Os benefícios diretos e indiretos do cultivo de trigo, no decorrer de anos, são maiores do que manter as áreas em pousio. O cultivo de trigo no inverno indiscutivelmente contribui na conservação do solo. A monocultura de soja expõe o solo pós-colheita, já que, diferente de milho, a soja produz pouca palha, além de ser de rápida decomposição. O plantio direto necessita de diversificação de espécime vegetal, com raízes capazes de romper o adensamento

do solo e formar palhada com maior durabilidade do que a soja. A cobertura do solo com culturas de inverno é fundamental no aumento e diversificação da fonte de palhada, evitando-se a erosão, a lixiviação de nutrientes por enxurradas e controle de plantas daninhas. Além de aproveitar as áreas, o cultivo de trigo movimentava o maquinário e aproveita a sobra residual de adubo aplicado no verão. Em outras situações, o trigo pode ser utilizado no inverno aplicando total de adubo necessário no inverno e verão, tornando desnecessária a subsequente adubação de soja, facilitando a implantação da cultura de verão. A cultura do trigo integrada em sistemas de rotação de cultura contribui efetivamente na manutenção e/ou melhoria da fertilidade química e física do solo, no controle de doenças, pragas e plantas daninhas e no aumento da eficiência de uso de maquinário, mão de obra e insumos na propriedade rural, sendo fundamental à sustentabilidade de agricultura (FUNDAÇÃO MERIDIONAL DE APOIO À PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2016).

3.2 ADUBAÇÃO NO TRIGO

Fatores bióticos e abióticos interferem na produtividade de grãos de trigo, limitando o seu cultivo em diversas regiões do mundo. Dentre os fatores bióticos, as doenças são determinantes na redução da produtividade, aumentando consideravelmente o custo de produção devido ao maior uso de insumos. A indução de resistência por meio da nutrição mineral pode integrar as estratégias de controles desses fito-patógenos, proporcionando a redução de custos e melhoria do ambiente (MORALES; SANTOS; TOMAZELI, 2012), sendo um dos motivos vantajosos de se realizar adubações necessárias na cultura do trigo.

O maior montante de custo na produção de trigo se atribui ao gasto em corretivos e fertilizantes. Outrossim, deve-se enfatizar a importância desses insumos no incremento da produtividade em lavoura tritícola, seja propiciando o cultivo em solo com fertilidade limitada, ou suprimindo demanda nutricional para expressar o potencial genético perante rendimento de grãos. A equação de ganho - custo deve buscar manejo que maximize eficiência do uso de nutrientes, resultando em alta produção mediante baixo custo de corretivos e fertilizantes (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016).

A quantidade de nutrientes extraídas pelo trigo depende de produtividade almejada, cultivar, condição climática, fertilidade do solo, adubação e demais tratamentos culturais. O conhecimento sobre exigências minerais e marcha de absorção constitui ferramenta valiosa no manejo de adubação (FORNASIERI FILHO, 2008). Em geral, as exigências nutricionais de macronutrientes em trigo estão atendidas se a concentração (g.Kg^{-1}) no tecido vegetal são de 20 a 30 de Nitrogênio (N), 3 a 5 de Fósforo (P), 15 a 30 de Potássio (K), 2 a 5 de Cálcio (Ca), 1,5 a 5 de Magnésio (Mg) e 1,5 a 4 de Enxofre (S), sendo a coleta do tecido vegetal realizada no início do espigamento das plantas (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016).

Na produção de semente, o uso de fertilizantes é mais comum do que para produção de grãos, já que as condições do solo, no tocante à composição e disponibilidade de nutrientes afeta a formação de embrião e órgãos de reserva, assim como a composição química e, conseqüente metabolismo e vigor de semente (OLIVEIRA et al., 2006).

A análise de solo eficientemente estima a dose corretiva de acidez e fertilizantes, mas é válida se a amostragem representar adequadamente à área a ser corrigida. A rotina visando calagem e adubação deve ter a periodicidade máxima de três anos, sugerindo amostrar de 0 a 10 cm de profundidade (ocasionalmente 10 a 20 cm) no sistema de plantio direto consolidado (COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2014).

A adubação deve seguir rigorosamente a análise de solo e expectativa de rendimento da cultivar escolhida, recomendando-se adicionar somente o nutriente limitante detectado. É importante lembrar que a interpretação dos teores de nutrientes, expressos no laudo de análise química perante nível de cada elemento no solo, deve ser realizada com base nos manuais ou indicações técnicas para adubação e calagem específica para distintas regiões do país. Salienta-se que o potencial de rendimento de cultivar é dependente do fator local-condição edafoclimática (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016). Além da adubação de manutenção, para rendimento superior a 3.000 Kg.ha^{-1} , adiciona-se $20\text{-}30 \text{ Kg.ha}^{-1}$ de N, 15 Kg.ha^{-1} de P_2O_5 e 10 Kg.ha^{-1} de K_2O por t adicional de grãos a ser produzida (CQFS-RS/SC, 2004).

Em geral, a adubação N-P-K (nitrogênio, fósforo e potássio) e micronutrientes procede-se no sulco de semeadura e, o suprimento de N complementado com duas aplicações em cobertura: uma na fase de perfilhamento e

a outra na fase de alongamento de colmo. Se alta dose de N é requerida em cultivar suscetível ao acamamento, recomenda-se aplicar produto regulador de crescimento à base de hormônio vegetal no início do afilhamento para manter a estatura baixa (menos propensa ao acamamento). O monitoramento das práticas de manejo de solo e cultura por análise foliar do trigo, embora seja complementar à análise de solo, indica que avaliar a nutrição da planta em tecido vegetal seria um indicador-mestre refletindo interação solo-planta-atmosfera resultante de todas as práticas agrícolas. As boas práticas de manejo do solo preconizam que, após a colheita do trigo, deve-se semear na área o mais rápido com uma nova cultura agrícola, de forma a reduzir o tempo de exposição do solo (sem plantas) à chuva e à erosão hídrica. A lavoura de trigo-inverno deve ser seguida de diversificação especialmente com espécies com vasto e vigoroso sistema radicular, já que a reduzida massa radicular da planta-trigo não adiciona matéria orgânica na matriz do solo, aumentando a probabilidade de adensamento e compactação (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016).

Harger et al. (2011) mostraram um visível aumento no investimento em insumo - adubação na semeadura de trigo paranaense nos últimos 12 anos. Assim, somente 9,8% da área total de trigo amostrada utilizaram doses $\geq 250 \text{ Kg.ha}^{-1}$ de N, P_2O_5 e K_2O na semeadura em 2002; o nível elevou para 37,5% em 2012 (DE MORI et al., 2014) e 41,9% em 2014 (DE MORI et al., 2016). O levantamento de 2014 citou 48 fórmulas comerciais de N- P_2O_5 - K_2O mais empregadas em trigo, com destaque a 08-20-20, 10-15-15, 12-31-17, 08-20-15 e 14-34-00, além de relatar a formulação enriquecida, especialmente com zinco e enxofre.

A análise química do solo é o principal instrumento no diagnóstico e monitoramento do grau de disponibilidade de P e K no solo, bem como na decisão perante aplicação de fertilizantes na cultura de trigo. Semelhante à adubação com N, o suprimento de P e K baseia-se no conceito de produtividade variável, i.e. o montante aplicado deve ser proporcional ao rendimento esperado, priorizando-se a dose única de P recomendada diretamente no sulco de semeadura (disposta 2,5 cm ao lado e abaixo da semente) usando fosfatados simples, ou a fórmula NPK. Devido à característica de argilo-minerais e presença de óxidos de ferro e de alumínio em solo das regiões tradicionais de triticultura brasileira, não se recomenda a adubação de P a lanço em cobertura. Em relação à adubação potássica, recomenda-se aplicar as doses requeridas não excessivas ($< 100 \text{ kg ha}^{-1}$ de K_2O) na linha de semeadura

(2,5 cm ao lado e abaixo da semente). Se a dose exceder 100 kg.ha⁻¹ de K₂O, recomenda-se aplicar parte de K antes da semeadura, ou em cobertura na fase inicial de crescimento/desenvolvimento. A formulação NPK é usada na semeadura, enquanto opta-se por KCl em cobertura (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016).

A calagem para trigo é tão importante quanto à adubação com N-P-K, sendo calculada em função da porcentagem de saturação por bases. O corretivo de acidez é aplicado se a porcentagem de saturação por bases for <60%, calculando-se a dose de calcário para atingir 70%, analisando o solo a cada três anos (COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2014).

Sob o ponto de vista nutricional de trigo, as melhores e mais responsivas tecnologias visam aumentar o uso eficiente de nutrientes relacionado ao processo adequado de manejo. As práticas devem fundamentar no conhecimento sobre potencial climático da região escolhida para o cultivo, associado a práticas de manejo do solo visando adequar e/ou manter características químicas e físicas perante desempenho da cultura, no manejo conservacionista do solo e, aplicação de dose correta no local e momento certo do ciclo de crescimento / desenvolvimento, capaz de suprir demandas nutricionais e nutrientes limitantes (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016). Dentre as demandas nutricionais cabe ressaltar a importância do nitrogênio, por ser o macronutriente mais requisitado pelo trigo (FORNASIERI FILHO, 2008).

3.2.1 Adubação nitrogenada

N é um elemento essencial à planta pela participação numa série de rotas metabólicas chave da bioquímica, como constituinte de biomoléculas, a exemplo de ATP, NADH, NADPH, clorofila e proteínas de armazenamento (HARPER, 1994). O suprimento inadequado de N é um dos principais fatores limitantes ao rendimento dos grãos de trigo, afetando a taxa de iniciação e expansão foliar, o tamanho final e a intensidade da senescência de folha (SCHRODER et al., 2000). O trigo, assim como os demais da família Poaceas apresentam cerca de 2,9% de N na constituição de planta e 2% em grãos (CANTARELLA, 2007).

N é indispensável ao perfilhamento, à eficiente taxa de enchimento de grãos e à qualidade e quantidade de proteína no trigo. Embora o perfilhamento seja geneticamente controlado, também depende de fatores ambientais

(FORNASIERI FILHO, 2008). Condições de dias curtos associados com elevada intensidade de luz, baixa temperatura e elevado N favorecem o perfilhamento, devido à interferência na atividade de fito-hormônios. Dia longo e elevada temperatura associam-se à produção de auxina (AIA) no ápice do colmo de plântulas, induzindo produção de etileno, inibindo o crescimento de gemas laterais e consequente formação de perfilhos. A citoquinina origina-se de aminoácidos e, promove crescimento de gemas e perfilhos. Assim, o efeito estimulante de N no perfilhamento provavelmente decorre do efeito na síntese de citoquininas (MENGEL; KIRKBY, 1982).

O teor de nutriente extraído do solo é proporcional ao volume de grão de trigo produzido. Considerando que o grão de trigo contém 2,5% de N, cada 1000 kg de grãos correspondem a 25 kg de N. Do total de N aplicado pela adubação química, 60 a 80% são aproveitados pela planta e, o restante perdido por lixiviação, erosão e volatilização. Em adição à reposição de nutrientes extraídos pelo trigo, a adubação recomendada deve maximizar o retorno econômico, sendo função da produtividade possível em face da disponibilidade de nutrientes, avaliada por análise laboratorial (OSÓRIO, 1982).

Baixa dose de N limita a produtividade de grãos/sementes, enquanto alta dose conduz ao acamamento, dificultando a colheita. Além de custo perante gasto com fertilizante, a elevada dose também prejudica o ambiente em função da lixiviação de nitrato para lençóis hídricos (TEIXEIRA FILHO et al., 2012). Na busca pela maior eficiência da adubação nitrogenada, três questões devem ser contempladas: quando aplicar o N, como aplicá-lo e quanto utilizar do nutriente. A quantidade de N depende diretamente da produtividade esperada, enquanto a forma de aplicação condiciona-se à fonte e ao sistema de cultivo. A época de aplicação relaciona-se diretamente com o eficiente aproveitamento do nutriente pela planta (FORNASIERI FILHO, 2008). Diversos métodos aumentam o aproveitamento da adubação nitrogenada, com destaque à dose e época adequadas, a aplicação correta usando a fonte apropriada à condição do solo e água, a rotação de culturas, o uso de inibidores de urease e de nitrificação (MALAVOLTA, 2006).

A época correta de aplicação de N é fundamental ao incremento do rendimento, já que aplicação precoce ou tardia reduz o aproveitamento pela planta (SILVA et al., 2005). A aplicação de N no momento adequado pode aumentar a eficiência de uso pelo trigo, incrementando o número de grãos por espiga e o

número de espigas por área. Soma-se a vantagem agrônômica devido à época apropriada, a redução no risco de poluição da água subterrânea ocasionada pelo acúmulo de nitrato (MAHLER et al., 1994).

A exigência de N para produzir três toneladas de trigo é de 70 kg, sendo 50 kg pelo grão e 20 kg pela palha, além de 25 kg adicionais para cada t de grão adicional (MALAVOLTA, 2006). A adubação na semeadura do trigo pode variar de 10 a 30 kg de N pós-cultura de soja e, de 25 a 50 kg/ha pós-milho (COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2014). Para cobertura do trigo recomenda-se de 30 a 60 kg.ha⁻¹ e 30 a 90 kg.ha⁻¹ de N pós-cultura da soja e milho, respectivamente. A diferença na recomendação decorre da decomposição de palhada por micro-organismos mobilizadores de N pré-existentes. Palm e Sanchez (1991) relataram que a qualidade do resíduo vegetal, principalmente a relação C/N e o conteúdo de lignina e polifenóis, influencia a taxa de mineralização e o aproveitamento do N pelas culturas. Portanto, tendo uma espécie leguminosa como cultura antecessora, além de haver a fixação biológica de N resultante da simbiose planta-bactéria, a mobilização de N do solo é menor em função de baixa relação C/N. O contrário ocorreria se cultura antecessora fosse gramínea com maior relação C/N e, conseqüente maior utilização de N do solo para decomposição deste resíduo.

Considerando o acúmulo de N e de massa seca durante o ciclo da cultura do trigo, observa-se que a maior parte da absorção de N ocorre entre as fases fenológicas de alongamento do colmo e de espigamento, atingindo teor máximo acumulado na antese, próximo aos 100 dias após emergência da planta. A partir desse estágio, a absorção de N continua ocorrendo, porém coincide com aumento considerável de perda (dreno) do elemento por senescência, queda de folhas e exsudação de compostos nitrogenados pelas raízes. As alterações na demanda de N de acordo com o ciclo da planta constituem a base para o manejo eficiente da adubação nitrogenada na cultura do trigo (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016).

Além de importância biológica, o N é nutriente de difícil manejo nos solos de regiões tropicais e subtropicais, em virtude de inúmeras reações devido à alta instabilidade (ERNANI, 2003). Assim, o parcelamento da adubação nitrogenada proporciona uma maior eficiência na assimilação pelo trigo, diminuindo perda por lixiviação em ano chuvoso e, volatilização em ano seco (MUNDSTOCK, 1999).

A adubação nitrogenada em cobertura consiste em aplicar o

fertilizante nos períodos de maior necessidade e absorção pelas plantas. Neste momento, objetiva-se garantir o desenvolvimento da cultura e a formação dos componentes de rendimento a partir de uma sincronia entre a demanda da planta e o fornecimento do nutriente pelo fertilizante. Assim, é importante conhecer a resposta da cultura à adubação nitrogenada, o comportamento das fontes de N utilizadas na adubação, as possíveis vantagens do parcelamento da dose, entre outros fatores, de forma a melhorar a eficiência da adubação nitrogenada em cobertura (FONTOURA; BAYER, 2009).

Com relação à adubação nitrogenada em cobertura, realizada no Paraná, pesquisas demonstram que houve aumento da adoção dessa prática nos últimos 15 anos, com flutuações expressivas entre as safras, ou seja: 56,4% da área de trigo abrangida no levantamento em 2000, 72% em 2005, 70,5% em 2007, 85,2% em 2012 e 74,8% em 2014. Além da ampliação do uso dessa prática, os dados apontam para um aumento da dose aplicada de N, sendo que doses acima de 45 kg.ha⁻¹ de N foram utilizadas em 50% da área de trigo monitorada na safra de 2014. Em relação à fonte de N em cobertura, destacam-se a ureia perolada e a granulada, que foram utilizadas, respectivamente, em 44,5% e 32,1% das áreas tritícolas amostradas no levantamento da safra 2014. No entanto, o uso de outras fontes de N – sulfato de amônio, nitrato de amônio e formulações de adubo N-P₂O₅-K₂O tem-se ampliado, passando de 5,2% da área total de trigo monitorada no levantamento realizado em 2012 (DE MORI et al., 2014) para 18,7% da área cultivada com trigo no levantamento realizado em 2014 (DE MORI et al., 2016).

A uréia é o fertilizante nitrogenado de cobertura mais utilizado no Brasil devido ao teor elevado de nitrogênio (45%), menor custo de transporte, alta solubilidade, menor corrosividade, compatibilidade com inúmeros fertilizantes e defensivos, alta taxa de absorção foliar, disponibilidade imediata para as plantas e facilidade de manipulação, além de causar menor acidificação no solo (YANO; TAKAHASHI; WATANABE, 2005; MALAVOLTA, 2006).

Geralmente, não há razão para a aplicação de doses de N menores do que 30 kg.ha⁻¹ em cobertura. O afilhamento (ou perfilhamento) ocorre durante um intervalo de cerca de 30 dias após a emergência do trigo, o qual coincide com o período compreendido entre a emissão da 4^a até a 8^a folha do colmo principal. A partir desse estágio, inicia o alongamento do colmo, quando o primeiro entrenó se torna aparente. A disponibilidade de N no início do afilhamento (4^a folha) define o

número de espiguetas por espiga e, na fase final (7ª folha), determina o número de afilhos que formarão espigas férteis, ou seja, a quantidade final de espigas por unidade de área (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016).

Para as doses mais elevadas de nitrogênio em cobertura ($60 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ para trigo pós soja e $90 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ para trigo pós milho), pode-se optar pelo fracionamento em duas aplicações: no início do perfilhamento e, o restante, no início do alongamento. A aplicação tardia de N em cobertura, após a fase de emborrachamento, geralmente não afeta o rendimento de grãos, mas pode aumentar o teor de proteínas do grão, sem que necessariamente, em todas as situações, o valor de W (força de glúten) seja alterado a tal ponto de modificar a classificação comercial do produto colhido (COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2014).

É variável a resposta produtiva das cultivares de trigo cultivado sob doses variáveis de N. Admite-se que algumas cultivares podem responder a doses elevadas, de até $120 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N (FREITAS; CAMARGO; PEREIRA FILHO, 1995). Porém, é comprovado que, para trigo cultivado após soja, a quantidade de nitrogênio aplicado pode ser menor do que a utilizada após gramíneas (IAPAR, 2000). Embora as respostas à aplicação de doses de nitrogênio apresentem resultados variáveis de acordo com clima, solo, cultivar e outros, grande parte dos resultados demonstram que o uso desse nutriente, mesmo que em baixas doses, resulta em produtividades superiores em relação à ausência do uso no nutriente (VIERA et al., 1995).

Segundo Zagonel e Fernandes (2007), a altura de plantas está ligada diretamente ao acamamento e pode ser afetada pela dose de nitrogênio, entre outros fatores. Doses maiores de N devem ser aplicadas quando se pretende obter altas produtividades, em cultivares resistentes ou moderadamente resistentes ao acamamento e com alto potencial de produtividade (REUNIÃO DA COMISSÃO CENTRO-SUL BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRITICALE, 2004).

Teixeira Filho et al. (2007), estudando a resposta de 4 cultivares de trigo a diferentes doses de N (0, 30, 60, 90 e 120 kg ha^{-1}), aplicados na forma de uréia em cobertura, verificaram que as doses de N influenciaram significativamente a produtividade de grãos, a massa de 100 grãos, o teor de N foliar, o número de espigas por metro, o comprimento de espigas e o número de espiguetas por espiga. Já Scalco et al. (2002), estudando a produtividade e qualidade industrial do trigo sob diferentes níveis de adubação, verificou que variações na produtividade e massa

hectolétrica do trigo podem ocorrer em função da lâmina de aplicação de água em diferentes doses de nitrogênio e cultivares.

A maioria dos trabalhos realizados com época de aplicação do nitrogênio na cultura do trigo tem utilizado apenas uma cultivar. Por outro lado, as cultivares diferem, substancialmente na sua capacidade de emissão de afilhos, no seu ciclo, na arquitetura de planta e no potencial produtivo. Estas diferenças podem interferir na capacidade de absorção, assimilação e conversão do nitrogênio à produção de grãos. Além disso, a cada ano são lançados novos genótipos que, por apresentarem base genética diferenciada, podem apresentar resposta distinta à dose e à época de aplicação do nitrogênio (SANGOI et al., 2007).

A quantidade de N absorvido durante o ciclo da planta exerce influência importante também no teor protéico. Determinante da qualidade tecnológica do trigo, a concentração protéica é sensível a condições do ambiente, podendo ser observado variações de 7 a 20% em uma única variedade, dependendo principalmente do ambiente de crescimento e uso de fertilizantes (KHAN; SHEWRY, 2009).

Kolchinski e Schuch (2004) relataram que, em cereais, as sínteses de proteínas e de amido competem por fotossintetizados durante o período de enchimento de grãos e quando a necessidade de N para o rendimento é satisfeita, o N é usado para aumentar a concentração de proteínas. Desta forma, em carência de N, os fotossintetizados que seriam convertidos em proteínas são usados na síntese de carboidratos.

De modo geral, a aplicação alternativa de N em cobertura após a fase de espigamento não aumenta o rendimento de grãos, mas pode aumentar a concentração de N e proteínas nos grãos, o que pode melhorar a qualidade tecnológica da farinha, embora esse parâmetro seja dependente de outros fatores (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016).

Além do efeito nos componentes do rendimento, o efeito da nutrição mineral, a qual está incluída a nutrição nitrogenada, sobre as doenças tem despertado cada vez mais o interesse da pesquisa. A sua manipulação pode se constituir em uma importante relação de controle de diversas doenças, por afetar a sobrevivência dos patógenos, sua reprodução e desenvolvimento. Baligar e Duncan (1990) mencionam que a condição nutricional que permite o máximo desenvolvimento vegetativo, também estimula o crescimento dos patógenos. Dessa

maneira, o balanço adequado entre os diversos nutrientes pode minimizar as perdas causadas pelas doenças. A adubação nitrogenada está intimamente ligada ao crescimento vegetativo. Embora o nitrogênio seja o nutriente para o qual a produção de grãos de trigo apresenta maior resposta, as adubações nitrogenadas geralmente tornam as plantas mais suscetíveis às doenças, acarretando perdas que reduzem a produtividade (ROTH et al., 1987).

Abdel-Raheem e Bird (1967) observaram maior suscetibilidade à doenças em planta submetidas a altas doses de nitrogênio. Condições favoráveis aos patógenos indicam que o uso de nitrogênio suplementar, em produções intensivas, pode aumentar também a incidência da infecção de sementes (MARTIN; McLEOD; CALDWELL, 1991). Por outro lado, a planta cultivada, com deficiência de nitrogênio, pode tornar-se debilitada, crescer lentamente e, conseqüentemente, tornar-se suscetível aos patógenos (ZAMBOLIM; VENTURA, 1993).

É de extrema importância definir o manejo da adubação nitrogenada e até que ponto as doses de N são benéficas para o desenvolvimento do trigo com maiores produtividades paralelo à manutenção da sanidade da lavoura de trigo. Somado a isso, a importância do manejo de micronutrientes que possuem relação benéfica na assimilação de N pela planta.

3.2.2 Adubação com micronutrientes

Os micronutrientes são requeridos em pequenas quantidades, de miligramas (um milésimo do grama) a microgramas (um milionésimo do grama). São micronutrientes: Boro, Cloro, Cobre, Ferro, Manganês, Molibdênio, Cobalto, Níquel e Zinco. É essencial o conhecimento do estado nutricional da planta para recomendação de adubação com micronutrientes. Para as plantas cultivadas, a análise química dos tecidos consiste no método mais largamente utilizado na avaliação do estado nutricional, sendo as folhas, o principal órgão amostrado para a maioria das espécies cultivadas. A interpretação do estado nutricional das plantas pode ser feita por diferentes métodos, sendo os mais comuns o método do nível crítico, o método das faixas de suficiência e o método do Sistema integrado de diagnose e recomendação (MALAVOLTA et al., 1999)

Mengel e Kirkby (1982) propuseram que os elementos minerais essenciais à planta sejam classificados de acordo com seu papel bioquímico e sua

função fisiológica. Os nutrientes foram divididos então em quatro grupos: nutrientes que fazem parte de compostos de carbono (nitrogênio e enxofre); os que são importantes no armazenamento de energia ou na integridade estrutural (fósforo, silício e boro); os que permanecem na forma iônica (potássio, cálcio, magnésio, cloro, manganês e sódio) e; os que estão envolvidos em reações de redução e oxidação (ferro, zinco, cobre, níquel e molibdênio) (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A maioria dos micronutrientes é constituinte de compostos-chaves no metabolismo de plantas ou essenciais ao funcionamento de sistemas enzimáticos. São requeridos em pequenas quantidades, quando comparados com os dos macronutrientes. A deficiência de um deles, no entanto, pode ter tanto efeito na desorganização de processos metabólicos quanto à deficiência de um macronutriente. Uma aplicação em excesso pode ser mais prejudicial à planta do que a própria deficiência (FORNASIERI FILHO, 2008).

A solução do solo é constituída pela água existente no solo e por todos os compostos orgânicos e inorgânicos dissolvidos nela. No solo, os micronutrientes se encontram distribuídos na fase sólida (orgânica e inorgânica) e líquida (solução). As plantas os absorvem, no entanto, somente a partir da solução do solo, onde a concentração (fator intensidade) da maioria deles é muito menor do que na fase sólida (fator capacidade) (FONTOURA; BAYER, 2009).

Devido à diversidade de fatores que influenciam a disponibilidade de micronutrientes para as plantas, seu uso deve ser cauteloso e, além da demanda não ser elevada. Os fertilizantes orgânicos, quando aplicados em doses que suprem a demanda das plantas em NPK, geralmente fornecem quantidades adequadas de micronutrientes para o desenvolvimento das plantas. Os fertilizantes fosfatados e o calcário também contêm pequenas quantidades de micronutrientes (COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2014). Em um levantamento realizado em 2014 no Paraná, a adubação foliar com micronutrientes foi utilizada em 11,3% das áreas estudadas (DE MORI et al., 2016).

De modo geral, as exigências nutricionais dos micronutrientes da cultura do trigo são atendidas quando as concentrações (mg.Kg^{-1}) no tecido vegetal são de 6 a 12 de Boro, 5 a 15 de Cobre, 2500 a 10000 de Cloro, 25 a 100 de Ferro, 25 a 100 de Manganês, 0,1 a 0,3 de Molibdênio e 25 a 70 de Zinco, sendo a coleta do tecido vegetal realizada no início do espigamento das plantas (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016)

Devido à grande importância dos micronutrientes, o manejo destes, seja na aplicação via tratamento de sementes ou via foliar é de extrema importância, tornando-se uma alternativa aos produtores, podendo contribuir para aumento da produtividade. Desta forma, além da adubação realizada tradicionalmente, via solo, é realizando o tratamento de sementes e a adubação foliar, como alternativa de suplementação e complementação do fornecimento de nutrientes para as plantas (EVANGELISTA et al., 2010).

3.2.2.1 Adubação com molibidênio

O molibdênio (Mo) é um micronutriente essencial para o crescimento de plantas, especialmente para espécies exigentes em nitrogênio, ou capazes de fixar biologicamente o nitrogênio (MALAVOLTA, 2006). A importância do micronutriente também é explicada por Taiz e Zeiger (2009) que abordam a participação do molibdênio na formação da redutase de nitrato e nitrogenase, com papel importante na síntese e assimilação de nitrogênio na planta.

O Mo é componente de pelo menos cinco enzimas distintas, catalisador de diversas reações em processos de transferência de elétrons, nitrogenase, redutase de nitrato, oxidase da xantina, oxidase de aldeído e oxidase de sulfato (NICHOLAS, 1975). Estas enzimas são complexas, cada uma contendo grupos adicionais não proteicos (apoenzimas) que também são transportadores de elétrons (MALAVOLTA, 2006). Mais especificamente, o molibdênio participa como componente da enzima nitrogenase, que é responsável pela quebra da tripla ligação do nitrogênio, formando amônia (NH_3) no processo de fixação biológica de nitrogênio, e também participa do complexo enzimático da nitrato redutase, que faz a redução do nitrato a nitrito no processo de assimilação do nitrogênio do solo (TAIZ & ZEIGER, 2012) sendo o segundo processo mais importante para a cultura do trigo.

Este micronutriente está relacionado com o metabolismo do N, associado à Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), à redução do nitrato, entre outras funções. Plantas supridas com amônia (NH_4) também o exigem, embora em quantidades menores que as supridas com nitrato (NO_3). As plantas bem nutridas quanto a Mo apresentam elevado teor de proteínas, ácidos nucleicos e ácido ascórbico. Já as deficientes apresentam quantidade reduzida de açúcares nas folhas. As primeiras produzem mais exsudados radiculares, fonte de C para

microrganismos de rizosfera os quais concentram o elemento na sua biomassa (MALAVOLTA, 2006).

A atividade de nitrato redutase afeta a síntese proteica nas plantas. A enzima rubisco é fixadora do CO₂ atmosférico no processo fotossintético, representando cerca de 50% de toda a proteína foliar. Desta forma, um aumento na atividade de nitrato redutase, em função do aumento das concentrações de molibdênio, auxilia a assimilação líquida de CO₂ e aumenta a taxa de crescimento das plantas (TIRITAN et al., 2007). A aplicação dos produtos à base de molibdênio, em diferentes estádios fenológicos da cultura do trigo, pode proporcionar maior crescimento das plantas e justificar assim um incremento do peso de sementes por planta (OLIVEIRA et al., 2014).

O primeiro indicativo de uma deficiência de molibdênio é a clorose generalizada entre as nervuras e a necrose de folhas mais velhas. Como o Mo está envolvido tanto com a redutase do nitrato quanto com a fixação de nitrogênio, a deficiência desse elemento pode acarretar uma deficiência de N, se a fonte deste for primariamente nitrato ou se as plantas dependerem da fixação simbiótica de nitrogênio (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A sua deficiência é de difícil diagnóstico no campo, pois os sintomas visuais são semelhantes aos da deficiência causada por baixa disponibilidade de N. Assim, a deficiência de Mo em trigo geralmente ocorre antes do espigamento, e as plantas apresentam crescimento reduzido e clorose generalizada das folhas. Sob condições de adubação nitrogenada elevada, as plantas deficientes em Mo apresentam clorose generalizada das folhas localizadas a partir do terço médio até o topo da planta (metabolismo e assimilação de N prejudicados pela limitação de Mo). Com o avanço da deficiência de Mo no trigo, as pontas das folhas tornam-se necróticas e secam. Devido aos baixos teores requeridos pela planta, o suprimento de Mo pode ser realizado via aplicação foliar (medida paliativa) e/ou tratamento de semente. Como o Mo é pouco móvel no solo, as adubações devem ser realizadas no sulco de semeadura, para facilitar o contato e a absorção do nutriente pela raiz da planta de trigo (BONA; MORI; WIETHÖLTER, 2016).

O molibdênio está presente no solo, geralmente sob a forma do íon molibdato (MENGEL; KIRKBY, 2001). Devido à deficiência em certos solos naturais, à remoção pelas culturas e, à falta de fertilizante molibdênico pela maioria dos produtores, gradualmente, estão esgotando os recursos naturais do solo, o que pode

afetar a capacidade produtiva das culturas (FERREIRA et al., 2003). Enquanto as plantas necessitam de pequenas quantidades de Mo, muitos solos não atendem a demanda. O conteúdo total de Mo em solos do Estado do Paraná varia entre 0,5 e 15,0 mg.kg⁻¹ e a quantidade disponível varia de 0,10-0,25 mg.kg⁻¹ (SOUZA et al., 1996).

Segundo Zoz et al. (2012) devido à alta mobilidade em plantas e da aplicação ser feita em menores quantidades, o Mo pode ser fornecido através de aplicação foliar. Os autores abordam que uma planta de trigo é exigente e responsiva a fertilização de nitrogênio com a presença Mo, contribuindo para aumentar a eficiência da utilização deste nutriente para maximizar o desenvolvimento e aumentar a produtividade da cultura. No entanto, não há muitos estudos que comprovem tal inferência.

Muitos estudos são encontrados na literatura relacionando a utilização de cobalto e molibdênio nas culturas da soja e do feijoeiro. No entanto, não há informações referentes à utilização e de possíveis benefícios destes em poaceas (OLIVEIRA et al., 2014).

Ascoli, Soratto e Maruyama (2008) avaliaram o efeito das doses e período de aplicação de Mo em feijoeiro e obtiveram aumento na produtividade com aplicação de até 101,2 g.ha⁻¹ de Mo a partir do qual foram observados efeitos tóxicos e reduções no rendimento. Calonego et al. (2010) descobriram que a ausência de Mo suplementar por adubação foliar promoveu o acúmulo de nitrato nas folhas do feijão comum como o aumento da disponibilidade de N no solo, indicando a baixa eficiência de assimilação de N na ausência deste nutriente.

Zoz et al. (2012) verificaram que a aplicação foliar de 35 g.ha⁻¹ de Mo aumentou o número de espigas por metro quadrado e o rendimento de grãos de trigo. Resultados semelhantes foram obtidos no estudo de Lima, Andrade e Carvalho (1999), no qual os autores verificaram que a aplicação de 75 g.ha⁻¹ Mo aumentou a produção de feijão comum e afetou positivamente os componentes de produção em relação à ausência de aplicação. No milho, Valentini, Coelho e Ferreira (2005) avaliaram a adubação com N e Mo e observaram aumento de produtividade com aplicação de Mo, com aumentos de produtividade de 44 e 12% na ausência e presença de nitrogênio, respectivamente.

3.3 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO TRIGO

O trigo representa aproximadamente 20% das calorias na dieta humana, tornando-o componente importante na alimentação. Os derivados imediatos são farinha branca e integral para a produção de pão, macarrão, bolo, massas (tortas, empadas, pastéis), panqueca, pizza, assim como o trigoilho, utilizado no preparo de quibe, torta de quibe, tabule e produtos diversos. Os produtos a base de trigo fornecem proteínas de alto valor biológico e carboidratos complexos (principalmente amido e fibras), bem como vitaminas do complexo B e ferro (CORNELL; HOVELING, 1998).

As cultivares são classificadas em cinco classes, conforme alveografia (força do glúten) e estabilidade: Trigo Básico, Trigo Doméstico, Trigo Pão e Trigo Melhorador, e em três tipos: 1, 2 e 3, definidos em função do limite mínimo de peso do hectolitro, número de queda, materiais estranhos e impurezas, grãos danificados e total de defeitos (COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2017). As cultivares se distinguem pela altura de planta, produtividade, conteúdo de endosperma, proporção de proteínas na farinha, qualidade de proteína, resistência a doenças e adaptabilidade a solos ácidos, requerimentos climatológicos e pela aparência física (ABITRIGO, 2008). A relação entre diversos fatores ambientais e os diferentes genótipos, repercute na composição e em propriedades funcionais (GEORGET et al., 2005).

O manejo de nutrientes também influi na composição química das culturas e dos produtos alimentares elaborados. O conteúdo e a estrutura das proteínas, as características do amido, a composição do óleo e dos ácidos graxos e a concentração de micronutrientes podem ser influenciadas pelo fornecimento de nutrientes às culturas (GRANT, 2014).

A composição química do grão de trigo (umidade, proteínas, carboidratos, lipídeos e minerais) afeta as características funcionais tecnológicas e, juntamente com as propriedades estruturais define a qualidade da farinha de trigo (SCHEUER et al., 2011). A composição química do grão varia amplamente dependendo do ambiente, adubação, solo e cultivar, e os constituintes não se distribuem uniformemente no grão (MIRANDA, 1998; MCKEVITH, 2004). O grão é composto pelo gérmen (2-3%), endosperma (80-85%), e pericarpo ou farelo (13-

17%), em base seca (BELDEROK, 2000). A tabela 1 apresenta as porcentagens de cada componente no grão e nas três distintas partes que o compõe.

Tabela 1 - Composição química de grão de trigo integral e respectivas frações.

Determinação	Grão (%)	Gérmen (%)	Farelo (%)	Endosperma (%)
Proteína	16	22	16	13
Lipídeo	2	7	5	1,5
Carboidratos	68	40	16	82
Fibras Alimentares	11	25	53	1,5
Minerais (Cinzas)	1,8	4,5	7,2	0,5
Outros componentes	1,2	1,5	2,8	1,5
Total	100	100	100	100

*Porcentagens convertidas para base seca. Fonte: BELDEROK (2000), adaptado de POMERANZ (1988).

O grão de trigo é uma cariópse, ou seja, apresenta semente única com 6 a 8 mm de comprimento e 3 a 4 mm de largura, com germen e tricomas em extremidades opostas e é constituído, basicamente, por pericarpo (7,8 a 8,6%), endosperma (87 a 89%) e gérmen (2,8 a 3,5%) (QUAGLIA, 1991). O pericarpo é rico em pentosanas, celulose e cinzas. A aleurona é uma camada rica em cinzas (fósforo, fitato), proteínas, lipídios, vitaminas (niacina, tiamina, riboflavina, piridoxina e ácido pantotênico, além de tocoferol) e enzimas. O gérmen apresenta alto conteúdo de proteínas, lipídios, açúcares redutores e cinzas. O endosperma é composto basicamente de amido, mas sua parte mais externa (subaleurona) contém mais proteínas que a porção interna (GERMANI et al., 1993). Essa constituição estrutural anatômica do endosperma caracteriza a textura do trigo em duas propriedades: vitreosidade e dureza (HADDAD et al., 2001). A vitreosidade é o fator visual determinado pelas condições de crescimento (como temperatura, água e nitrogênio disponíveis) e que se refere ao grau de compacticidade do endosperma. A dureza (grau de resistência à deformação) é o parâmetro físico definido por fatores genéticos (GREFFEUILLE et al., 2007). A dureza é um aspecto muito importante a ser considerado no processo de moagem do grão, pelo fato de ser determinante das características de qualidade (EL-KHAYAT et al., 2006).

No trigo, os lipídeos estão presentes em uma taxa de 1,0 à 3,0%, e são encontrados como em outros cereais, o ácido palmítico, o ácido oléico e o ácido linoléico como os mais abundantes. Também são observados consideráveis teores de fosfolipídios, como a lecitina, um emulsificante natural. Os lipídeos do trigo estão

dispersos por toda a sua estrutura. Constituem grande parte do gérmen, mas também estão presentes no pericarpo. Na semente, encontram-se especialmente na aleurona, agrupados às proteínas e polissacarídeos (ZARDO, 2010).

O grão de trigo tem em amido o polissacarídeo mais importante. A periferia do grão de trigo é rica em celulose, mas também apresenta abundância açúcares livres (mono e dissacarídeos, como maltose, frutose e sacarose) e hemiceluloses (pentosanas, pentoses, rafinose, xilose e arabinose) (SENAI, 2009).

As proteínas são compostos moleculares de elevada massa molecular, constituídos de aminoácidos ligados entre si. Albuminas, globulinas, gliadinas e gluteninas são as proteínas encontradas no trigo. As duas primeiras são solúveis em água e representam, em média menos de 1/6 das proteínas totais. Gliadina e glutenina, porção proteica majoritária, são insolúveis e quando hidratadas e submetidas a esforços mecânicos de mistura e amasse, formam o glúten (ZARDO, 2010). O teor e a qualidade das proteínas são especialmente afetados pelas diferenças ambientais como clima, irrigação, temperatura, fertilidade, mobilidade do nutriente no solo e na planta e disponibilidade de N no solo (COELHO et al., 2001). Soares Sobrinho (1999) observou que as características físico-químicas e reológicas mais influenciadas positivamente pela adubação nitrogenada foram teor proteico e força de glúten.

A matéria mineral concentra-se na periferia do grão, diminuindo consideravelmente o teor nas regiões centrais. Salienta-se que o grão integral contém em torno de 1,5 - 2,1% de cinzas, enquanto o pericarpo apresenta de 5,5 - 6,5% de cinzas (SENAI 2009).

As vitaminas do trigo representam um complexo de substância, agrupadas não pela similaridade química, mas porque detêm funções biológicas importantes para o metabolismo e manutenção dos organismos vivos. O trigo possui considerável número de vitaminas, em especial as do complexo B, que estão dispostas principalmente no gérmen e na camada da aleurona. As principais vitaminas encontradas no trigo são B1, B2 e B6, PP, A e E. Quanto aos minerais, sais de potássio, fósforo, enxofre e magnésio são os mais abundantes. Sais de cálcio também se encontram entre os mais importantes do trigo. Zinco, cobre, ferro e manganês, minerais de importante função biológica para a saúde humana, também fazem parte do cereal (ZARDO, 2010).

O teor de água do grão representa um índice comercial significativo,

pois influencia seu peso específico, rendimento de moagem, conservação e características tecnológicas (QUAGLIA, 1991). Um exemplo disso é a influência que as condições climáticas exercem durante a colheita e a influência que as condições de umidade do ambiente exercem durante a estocagem, sobre a quantidade de água a ser adicionada na elaboração de determinado produto (POPPER, SCHÄFER e FREUND, 2006). Os limites de umidade se caracterizam como aspectos imprescindíveis para conservação do grão e da farinha e para a respectiva comercialização (MIRANDA, DE MORI e LORINI, 2008). A influência da umidade, atividade da água e da temperatura no crescimento de fungos e na produção de micotoxinas deve ser considerada como uma forma de preservar as características dos grãos (NOUREDDINE, KIM e STRELKOV, 2009).

3.4 MÉTODO NIR PARA DETERMINAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Atualmente métodos rápidos para determinação da composição química de alimentos são cada vez mais interessantes para a praticidade da pesquisa e para o mercado de alimentos como um todo. O método rápido NIRS (espectroscopia no infravermelho próximo), por exemplo, é um método de determinação da composição química através de medidas de reflectância ou transmitância na região do infravermelho. Para isso, é necessário o estabelecimento de uma relação matemática entre o espectro adquirido e os valores de concentrações medidas por um método de referência. Essa relação, quando bem estabelecida, propicia um baixo custo, com alta precisão e repetitividade dos resultados de uma dada concentração por meio de um modelo de calibração (SCAFI, 2000).

A espectroscopia de infravermelho próximo é baseada na absorção pelo material de luz infravermelho próximo (comprimento de ondas de 800 a 2500 nm). Quando um material é irradiado com luz infravermelha há vibrações moleculares e a energia absorvida é específica para diferentes tipos e intensidades de vibrações e depende do meio químico dos grupos moleculares. Portanto, diferentes moléculas e grupos moleculares absorvem radiação com energia diferente, isto é, com diferentes comprimentos de ondas. A refletância da luz para cada comprimento de onda é medida com um espectrômetro e é utilizada para o cálculo da absorção. O espectro de absorção obtido fornece informação sobre as

moléculas ou grupos moleculares envolvidos (SO et al., 2004).

3.5 FUSARIOSE NO TRIGO

O trigo é afetado por diversas doenças em função de condições climáticas, tipo de solo e susceptibilidade da cultivar no campo. A doença mais conhecida que comumente ataca este cereal é a Fusariose, desencadeada pela infecção de fungos do gênero *Fusarium*, que além de causar enfermidades na plantação, podem produzir através de seu metabolismo secundário substâncias tóxicas, denominadas micotoxinas (CALORI- DOMINGUES et al., 2007).

A fusariose (ou giberela) de trigo, cujo agente causal é *Gibberella zeae* (fase teleomórfica) (Schw.) Petch (anam. *Fusarium graminearum* Schwabe), é uma doença sob manifestação mais intensa em região com excesso de chuva e temperatura amena no período de floração e maturação do grão (DEL PONTE et al., 2004). *Fusarium* spp. está amplamente distribuído na natureza, seja como saprófitas ou como parasitas, sendo detectado em ampla variedade de planta e produtos agrícolas, principalmente em cereais.

G. zeae pertence à divisão Amastigomycota, classe dos Ascomycetes, subclasse dos Pirenomyces, ordem Hypocreales e família Nectriaceae. *F. graminearum* pertence à divisão Amastigomycota, classe dos Deuteromycetes, ordem Moniliales e família Tuberculariaceae (ALEXOPOULOS, 1962).

A intensidade da fusariose é dependente das condições climáticas para o seu estabelecimento, por isso, as epidemias variam de ano para ano. O fungo sobrevive nas sementes e nos restos culturais de inúmeras gramíneas, e em uma ampla gama de hospedeiros, desde espécies de expressão econômica, como também muitas gramíneas nativas e plantas invasoras, o que favorece a continuidade do seu ciclo de vida (REIS; CASA, 1998).

Este patógeno é um parasita necrotrófico, que pode colonizar outros órgãos da planta além das espigas. Seus requerimentos nutricionais são simples sobrevivendo em restos de culturas (REIS, 1988).

Fusarium graminearum predomina em trigo, mas também coloniza o milho, cevada, entre outros (BRIYONES-REYES, GOMÉZ-MARTINEZ e CUERVA-ROLÓN, 2007). Por se tratar de um fungo cosmopolita, inúmeros são os hospedeiros

secundários que podem abrigar o patógeno e assim servir como fonte de inóculo capaz de iniciar uma nova infecção ou mesmo uma epidemia. Milho, arroz, cevada, sorgo, aveia e inúmeras gramíneas são exemplos de hospedeiros suscetíveis que podem abrigar o patógeno, mesmo na ausência de trigo no campo (MEHTA, 1978). Houve o aumento na intensidade da doença devido, provavelmente, ao aumento de inóculo no ar, conseqüência da manutenção de restos culturais sobre a superfície do solo no sistema plantio direto (PANISSON, 2001).

A forma telomórfica pertence ao grupo dos Ascomycetos, apresentando peritécios superficiais, gregários e coloração púrpura-escura a preto, produzindo de quatro a oito ascósporos por asca, os quais podem desenvolver-se tanto nas hastes florais infectadas (HANLIN, 1990; REIS, 1985) quanto sobre uma larga gama de cereais e gramíneas e desenvolvem um expressivo papel como fonte de inóculo (DESJARDINS, 2003). O principal agente de disseminação dos ascósporos é o vento, enquanto que para os macroconídios são os respingos de chuva. O primeiro é o responsável pelo transporte a longas distâncias enquanto que o segundo a curta distância (REIS, 1988). Os ascósporos só são lançados ativamente no ar após a sua hidratação, quando então são transportados pelo vento (SUTTON, 1982).

A forma anamórfica apresenta macroconídios hialinos, gerados em fiálides com curtas ramificações de conidióforos, cuja produção é abundante sob clima úmido e quente. Infecções causadas por *Fusarium graminearum* podem ocorrer nos principais componentes da espiga: partes florais, glumas, grãos e ráquis. A espiguetas, quando infectada, apresenta coloração rosada ou rosa salmão, especialmente na base e nas bordas das glumas (REIS, 1985). As aristas das espiguetas infectadas mostram-se arrepiadas e os grãos podem se desenvolver, porém tornam-se enrugados, chochos, de aparência áspera e com coloração cor-de-rosa (REIS, CASA e MEDEIRA, 2001).

Apesar de ser considerada uma doença de difícil controle, a fusariose possui estratégias de controle baseadas no desenvolvimento de cultivares com melhor nível de resistência e uso de fungicidas aplicados na parte aérea, na fase de floração. Esta doença é tipicamente de infecção floral e apresenta, como característica marcante, a esporadicidade de ocorrência, sendo mais frequente naquelas regiões onde ocorrem períodos prolongados de chuva (mais que 72 horas)

e temperaturas médias no período chuvoso maiores que 20°C após o início da floração (REIS, CASA e MEDEIRA, 2001).

A utilização de práticas agrícolas como, uso de variedades de trigo sensíveis, sem rotação de culturas, plantio direto ou reduzido preparo do solo, podem causar aumento no ataque por fungos e, possível produção de micotoxina (EDWARDS, 2004). O uso de fungicidas no decorrer do desenvolvimento do trigo não garante a ausência de toxinas no grão colhido. Fatores geográficos, susceptibilidade da variedade e condições de armazenamento também interferem na produção de metabólitos fúngicos, podendo ocorrer produção simultânea de micotoxinas (BULLERMAN, SCHOEREDER e PARK, 1984).

O efeito da época, do número de aplicações e doses de fungicida no controle da giberela em trigo foi estudado por Panisson, Reis e Boller. (2002), os quais observaram que até sete aplicações de tebuconazole (150 g.i.a. ha⁻¹), realizadas durante a antese, não erradicaram a doença (controle de 91%). Quando os autores utilizaram duas e três aplicações durante a antese, houve controle superior em relação a uma única aplicação, sendo que o controle médio dos tratamentos foi de 67% em relação a severidade.

A doença resulta em perdas na produção de até 50% (PARRY, JENKINSON e MCLEOD, 1995) e contaminação adicional com zearalenona, desoxinivalenol e outros tricotecenos (nivalenol, toxina T-2, toxina HT-2) (PLACINTA, D'MELLO e MACDONALD, 1999). Além disso, a fusariose destrói os grânulos de amido e paredes celulares, afetando a estocagem de proteínas do endosperma, resultando em uma baixa qualidade do produto (SNIJDERS, 2004). Durante as safras de 1984 a 1994 os danos causados à produtividade de grãos na Região Sul do Brasil atingiram em média 5,4% (REIS et al., 1996). Na safra de 2000, a redução da produtividade foi de 17,5% e nas safras de 2001 e 2002 foi de 13,4 e 11,6% respectivamente (CASA et al., 2004).

Não há relatos de cultivares completamente resistentes à *F. graminearum*. A maioria das variedades são totalmente suscetíveis e apenas poucas são moderadamente resistentes (GINKEL et al., 1996; WILCSON, BUSCH e OZMAN, 1992). Quando mais de 10.000 variedades e linhagens de trigo originadas na China e em outros países foram desenvolvidas, apenas 40 delas apresentavam resistência à fusariose suficiente para serem consideradas como germoplasma viáveis (DARDIS; WALSH, 2002).

O modelo de resistência proposto por Schroeder e Christensen (1963) tem sido largamente aceito e é baseado em dois componentes de resistência: tipo I - definida como resistência à infecção inicial e tipo II - definida como resistência à colonização subsequente do tecido após a infecção. Contudo, outros mecanismos adicionais de resistência foram em seguida propostos: tipo III – resistência expressa no próprio grão; tipo IV - tolerância de infecção, onde o rendimento econômico é mantido, mesmo na presença da doença; e tipo V - resistência ao acúmulo de micotoxinas (GILBERT; TEKAUZ, 2000).

Acredita-se que, geralmente, a resistência do tipo II pode dar maior ênfase no desenvolvimento de estratégias de controle, devido ao fato de que perdas no rendimento são limitadas mesmo quando o fungo está presente (WANG; MILLER, 1988). Algumas cultivares de trigo como a BRS 177, BRS 179, BRS Louro, BRS Timbaúva e BRS Umbu apresentam moderada resistência à fusariose, a qual é caracterizada como sendo do tipo II (resistência à colonização). No desenvolvimento de cultivares resistentes à fusariose, o ideal é selecionar aqueles genótipos que possuam resistência do tipo I ou II. Tipicamente, pesquisas buscam a identificação de genótipos com os tipos I e II de resistência, na esperança de que os tipos III, IV e V também estejam presentes (DARDIS; WALSH, 2002).

3.6 CONTAMINAÇÃO POR DESOXINIVALENOL NO TRIGO

As micotoxinas são compostos tóxicos de ocorrência natural, produzidos por uma variedade de espécies fúngicas capazes de se desenvolverem em produtos agrícolas, seja durante crescimento no campo, ou no armazenamento, bem como em alimentos processados e rações animais (SCUSSEL, 2002). Causam importantes impactos econômicos devido à redução na produtividade vegetal e animal, e também toxicológicos, com manifestações clínicas tanto em humanos quanto em animais (SANTOS, 2009).

A produção de micotoxina depende do crescimento fúngico e pode ocorrer em qualquer época de cultivo, colheita ou estocagem, permanecendo no grão mesmo após a eliminação do fungo produtor. O crescimento fúngico e a produção de toxinas não são sinônimos, já que nem sempre as melhores condições de crescimento coincidem com a de síntese de toxina (TANIWAKI; SILVA, 2001). Porém Lori et al. (2003) relacionaram a presença de *F. graminearum* com a

contaminação de DON em amostras de trigo em duas colheitas consecutivas em diferentes localidades da Argentina. Estes autores verificaram que todas as 20 cultivares avaliados foram infectados pelo fungo, na primeira colheita a incidência fúngica foi baixa (10,2%) e a toxina foi detectada em 55% das amostras, sendo que apenas 10% destas possuíam concentrações superiores a $2.000 \mu\text{g.kg}^{-1}$, no segundo ano, a invasão fúngica foi superior, chegando a 42% nas regiões mais úmidas, e a micotoxina estava presente em 78,2% das amostras, das quais 31,6% apresentavam concentrações elevadas tais como $8.000 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

A acumulação de micotoxina durante o período de cultivo é influenciada por fatores como o clima, rotação de culturas, preparo do solo, escolha do cultivar e aplicação de fungicidas (BEYER et al., 2006). O conhecimento dos fatores que governam a produção de toxinas pelos fungos é extremamente importante para o controle de qualidade dos alimentos, pois pode contribuir para o estabelecimento de medidas de prevenção durante a produção (TANIWAKI; SILVA, 2001).

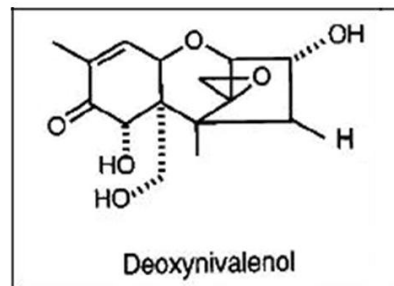
As condições ótimas para a produção de micotoxinas em grãos infectados dependem de substrato, espécies e isolado ou linhagem de *Fusarium* spp. e, principalmente de limites bem definidos de temperatura e atividade de água (DOOHAN; BRENNAN, COOKE, 2003). Estudos envolvendo a contaminação de grãos de cevada, trigo, arroz e milho por *F. graminearum* e *F. culmorum* demonstraram que as melhores condições para produção de micotoxinas pertencentes ao grupo dos tricotecenos são temperaturas entre 25 a 28 °C e atividade de água de 0,97 (HOMDORK; FEHRMANN; BECK, 2000).

Ramirez, Chulze e Magan (2006) relataram que a quantidade de DON produzido por 2 isolados de *F. graminearum* em trigo variou consideravelmente (de 5 a $140.000 \mu\text{g.kg}^{-1}$) dependendo da interação entre atividade de água e temperatura, sendo que a atividade de água ótima para o crescimento estava entre 0,95 e 0,99 e temperatura ótima de 25 °C. De acordo com Molin (1999), a toxina DON pode ser sintetizado em ambientes com temperaturas constantes e situadas entre 12 e 28°C, com ótimo entre 25-28°C e umidade do substrato entre 22 e 50% (ótimo = 50%).

Desoxinivalenol - DON (Figura 1) pertence ao grupo de tricotecenos, produzida principalmente por *F. graminearum*, sendo comum em cereais de grão pequeno (BANDO et al., 2007; FREIRE et al., 2007). Os tricotecenos são toxinas

gastrintestinais, dermatotoxinas, imunotoxinas, hematotoxinas e genotoxinas, sendo DON conhecida também como Vomitoxina, em virtude de desencadear crises de vômito, sobretudo se consumida por suíno (CONKOVÁ et al., 2003). A importância toxicológica se destaca pela produção em baixa temperatura e alta umidade, com alta incidência em cereais de inverno, como trigo e em subprodutos de consumo humano (MALLMANN et al., 2003).

Figura 1 - Estrutura química de desoxinivalenol.



Fonte:(DESJARDINS et al., 2000)

International Agency for Research on Cancer classifica DON no Grupo 3, i.e., não carcinogênico para humano (IARC, 2002), e a Ingestão Diária Máxima Tolerável Provisória (PMTDI) foi estabelecida em $1 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ de peso corporal (WHO, 2003).

Os efeitos tóxicos em animais têm sido bem documentados e focalizam principalmente o sistema imunológico e o trato gastrointestinal; doses agudas são caracterizadas por efeitos como diarreia, vômito, leucocitose, hemorragia, choque circulatório e por fim morte, as doses crônicas são caracterizadas por recusa alimentar, redução no ganho de peso e na absorção de nutrientes e alterações neuroendócrinas e imunológicas (PESTKA; SMOLINSKI, 2005). Casos de vômitos, náuseas, dores abdominais e diarreia em humanos já foram relatados na Ásia; estes sintomas foram correlacionados com o consumo de grãos contaminados por *Fusarium*, e mais recentemente com a presença de DON nos grãos utilizados para o consumo humano, nas concentrações de $3.000-93.000 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ (CREPPY, 2002).

O mecanismo de toxicidade de DON é a inibição da síntese proteica em eucariotos. Tricotecenos se ligam a sub-unidade 60S dos ribossomos e interagem com peptidiltransferases, que inibem a formação de ligações peptídicas

(SUDAKIN, 2003). Os leucócitos são os principais alvos de tricotecenos, que podem atuar como imunoestimuladores ou imunossupressores, dependendo da dose, frequência e tempo de exposição (PESTKA et al., 2004).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a DON como uma neurotoxina, de caráter teratogênico e características imunossupressoras, e, assim como os tricotecenos em geral, têm sido associadas com intoxicação crônica e fatal dos seres humanos e animais através do consumo de alimentos contaminados (ROTTER; PRELUSKY; PESTKA, 1996). A Resolução - RDC n° 7 de 18 de fevereiro de 2011 dispõe limite máximo tolerado (LMT) para DON a partir do ano 2012, com a redução gradativa até atingir menor nível em 2017 (Tabela 2) (BRASIL, 2011).

Tabela 2 - Limite máximo tolerado (LMT) para DON em alimento brasileiro.

A vigorar a partir de	Alimento	LMT ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
2012	-Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo	2000
	-Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	1750
2014	-Trigo e milho em grãos para posterior processamento	3000
	-Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo	1500
	-Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo	1250
2017	- Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo.	1000
	-Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo	750

Fonte: Resolução - RDC n° 7, de 18 de fevereiro de 2011. (Adaptado RDC n° 59, de 26 de dezembro de 2012)

Uma elevada contaminação por *Fusarium* spp. em trigo tem sido associada à perda na qualidade de panificação e redução no volume de pão. Portanto, medidas preventivas desde o início do cultivo no campo tornam-se essenciais para evitar matéria-prima contaminada (SANTOS, 2009). A elevada estabilidade química de DON dificulta a sua redução, seja na estocagem ou durante processamento térmico como cozimento, assamento ou fermentação (PRANGE et al., 2005). A diminuição do limite máximo tolerado da micotoxina nos alimentos torna

mais importante a busca pela redução da contaminação do trigo nacional e estadual, assim como a busca por métodos rápidos de determinação de DON.

3.7 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE DESOXINIVALENOL

Entre os métodos atualmente disponíveis para determinação de DON em diversas matrizes, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) tem sido o método mais utilizado. CLAE proporciona uma maior sensibilidade que a Cromatografia por Camada Delgada (CCD) e requer procedimentos de purificação mais simples que os necessários para a Cromatografia Gasosa (CG) (NURYONO et al., 2005). A metodologia mais recente tem utilizado CLAE acoplada com espectrometria de massa (CAVALIERE et al., 2005), apresentando a vantagem de acoplar o caráter confirmatório.

A competitividade na indústria de alimentos e rações envolve grande redução de custo, com menor mão-de-obra e resultados imediatos. Métodos rápidos têm conquistado cada vez mais importância, devido ao menor custo, facilidade no uso e possibilidade de análise *in loco*. Normalmente, a expressão “método rápido” refere-se a um método muito mais rápido do que o método referência (ZHENG, RICHARD e BINDER, 2006). Os testes rápidos para análise de alimentos têm sido cada vez mais exigidos pela comunidade analítica, especialmente durante a última década (SCHNEIDER et al., 2004). A maioria destes métodos fornecem resultados qualitativos ou semi-quantitativos em minutos, sendo recomendados para triagem.

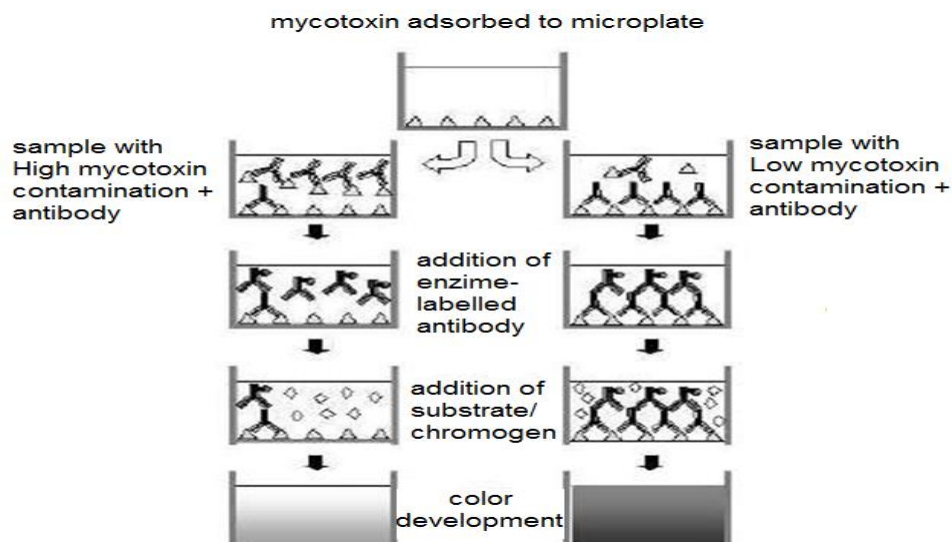
O imunoensaio é procedimento analítico baseado na ligação não covalente entre antígeno e anticorpo e, desenvolvido para detectar o antígeno ou anticorpo (ONO et al., 2004). A produção de anticorpo anti-micotoxina envolve anticorpo monoclonal (AcM) empregando hibridoma. Devido a característica de hapteno de micotoxinas, ocorre a necessidade de obtenção de conjugado toxina-proteína de alta pureza, em escala de rotina. Os hibridomas são células produzidas pela fusão de linfócitos B e células tumorais (mieloma), tendo a capacidade de proliferar, produzindo AcM específico para a confecção de métodos imunológicos com alta afinidade e especificidade de ligação, homogeneidade e em quantidades ilimitadas (SANTOS, 2009). Para obter um hibridoma, o pesquisador necessita ter conhecimento multidisciplinar, visto que é um trabalho laborioso em que envolve preparo do conjugado (proteína-antígeno); imunização de animal; fusão de células

esplênicas do animal imunizado com células de mieloma; seleção celular; clonagem; e adaptação em meio de cultura para produção de AcM (TAKABAYASHI YAMASHITA, 2013).

Há décadas, a utilização dos métodos de ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) para micotoxinas estão disponíveis comercialmente, sendo a tecnologia baseada na capacidade de um anticorpo específico distinguir estrutura tridimensional de uma micotoxina específica.

Um dos diferentes modelos de ELISA é o método competitivo indireto (Figura 2). O princípio de ic-ELISA baseia-se na competição entre a micotoxina presente na amostra com a toxina imobilizada em uma microplaca, perante o mesmo sítio de ligação específico do Ac (anticorpo). A concentração de toxina na amostra é indiretamente quantificada pela reação procedente de Ac específico anti-micotoxina absorvido à superfície sensibilizada, que atua como sítio de ligação ao anti-IgG (Ac secundário) marcado com enzima, responsável pela reação colorimétrica (TAKABAYASHI YAMASHITA, 2013).

Figura 2 – Esquema de ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) competitivo indireto.



Fonte: Ono et al. (2006).

Diversos imunoenaios ELISA têm sido comercialmente disponibilizados para uma variedade de micotoxinas, incluindo detecção de aflatoxina, ocratoxina, fumonisina, zearalenona, desoxinivalenol, citrinina e toxina T-2 (KRSKA et al., 2008). O método de ELISA é uma alternativa simples e econômica

a métodos instrumentais químicos em constante avanço, sendo indicado para a triagem rápida na análise de micotoxinas em matrizes alimentares (PRIETO-SIMÓN et al., 2007).

As principais vantagens de imunoensaio são a especificidade na detecção - devido à seletividade de ligação anticorpo-antígeno, rapidez, simplicidade e adaptabilidade; sendo a reação realizada numa microplaca com capacidade de análise simultânea para dezenas de amostras (KRSKA et al., 2008).

Entretanto, as limitações consistem na manutenção da integridade estrutural de Ac utilizado, já que se tratando de proteína, a desnaturação pode resultar em baixa reprodutibilidade, devido a perda de afinidade específica; somam-se ainda a possibilidade de resultado falso-positivo devido à reação cruzada, i.e. ligação do Ac com constituintes interferentes e/ou inibição da atividade da enzima dependendo de matrizes alimentares, implicando na necessidade de procedimentos confirmatórios (CHO et al., 2008).

Observa-se um aumento na preocupação com a contaminação de alimentos por micotoxinas, incluindo-se o DON, tanto mundialmente quanto no Brasil. Assim, conhecer a extensão dessa contaminação poderá fornecer subsídios para os diversos segmentos envolvidos com a produção, utilização e importação de trigo, bem como fiscalização e pesquisa, sempre visando garantir ao consumidor final a possibilidade de ter produtos de melhor qualidade (CALORI-DOMINGUES et al., 2007).

4 MATERIAL E METODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Localização e Caracterização do Experimento

O campo experimental pertenceu à cultura do trigo nos anos agrícolas de 2013 e 2014, na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina - UEL, localizada no município de Londrina - PR. A área experimental foi caracterizada pelas coordenadas geográficas 23°23' de latitude Sul e 51°11' de longitude Oeste, com altitude média de 566 m com clima do tipo Cfa - subtropical úmido com verões quentes, segundo classificação de Köppen.

A área experimental foi manejada para o sistema de plantio direto, sendo o trigo cultivado em sucessão a cultura do milho, em Latossolo Vermelho Eutroférico (EMBRAPA, 2006). A caracterização química do solo, anteriormente à instalação do experimento, foi realizada amostrando à profundidade de 0 a 10 cm e de 10 a 20 cm. Na tabela 3 são apresentadas as características químicas do solo da área experimental em 2013 e 2014.

Os dados meteorológicos de temperaturas diárias e precipitação pluvial durante a condução do experimento em 2013 e 2014 foram fornecidos por Instituto Nacional de Meteorologia - INMET (2016), conforme figuras 4 e 5.

Baseado na análise do solo da área experimental, procedeu-se a adubação mineral básica com 12 kg ha⁻¹ de N, 42 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 24 kg ha⁻¹ de K₂O (300 kg ha⁻¹ da fórmula 4-14-8) para os anos de 2013 e 2014, na linhas de semeadura e constante para todos os tratamentos (COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2014).. As adubações de cobertura para N e foliar para Mo foram testadas em diferentes doses.

A adubação nitrogenada de cobertura foi realizada na fase do perfilhamento, correspondente ao estágio 2 na escala fenológica de Large (1954), sendo composta pelas doses estabelecidas para cada tratamento, usando como fonte de nitrogênio o sulfato de amônio, na concentração de 21% de N.

A adubação molibídica via foliar, também, foi realizada na fase de perfilhamento, sendo calculada a dose de 60 g.ha⁻¹ com base na concentração da

fonte de molibdênio (molibdato de potássio, na concentração de 14% de Mo e 12% de K_2O e com $1,4 \text{ g.mL}^{-1}$ de densidade), o que resultou em uma dose de aproximadamente 430 mL.ha^{-1} de produto comercial aplicados nas parcelas pertencentes ao tratamento com adubação molibidênica.

4.1.2 Cultivares de Trigo

As cultivares de trigo avaliadas foram CD 150 e QUARTZO. A cultivar CD150 é de ciclo precoce, pertencente a classe comercial trigo melhorador, com força de glúten (W) de 375 e classe de fertilidade considerada média/alta. A cultivar atinge o espigamento em 59 a 66 dias, e a maturação em uma média de 114 a 120 dias. A altura média da planta é de 68 cm (baixa), moderadamente resistente ao acamamento, moderadamente resistente a ferrugem da folha e suscetível a giberela. A cultivar CD150 é indicada para o Estado do Paraná nas regiões 2 e 3 de Valor de Cultivo e Uso (VCU), com densidade recomendada de 300 a 350 sementes viáveis m^{-2} para Região 2 e, 400 a 450 sementes viáveis m^{-2} para Região 3. A planta apresenta folhas eretas, aurícula incolor, formato de espiga fusiforme e grão de textura dura (COODETEC, 2015).

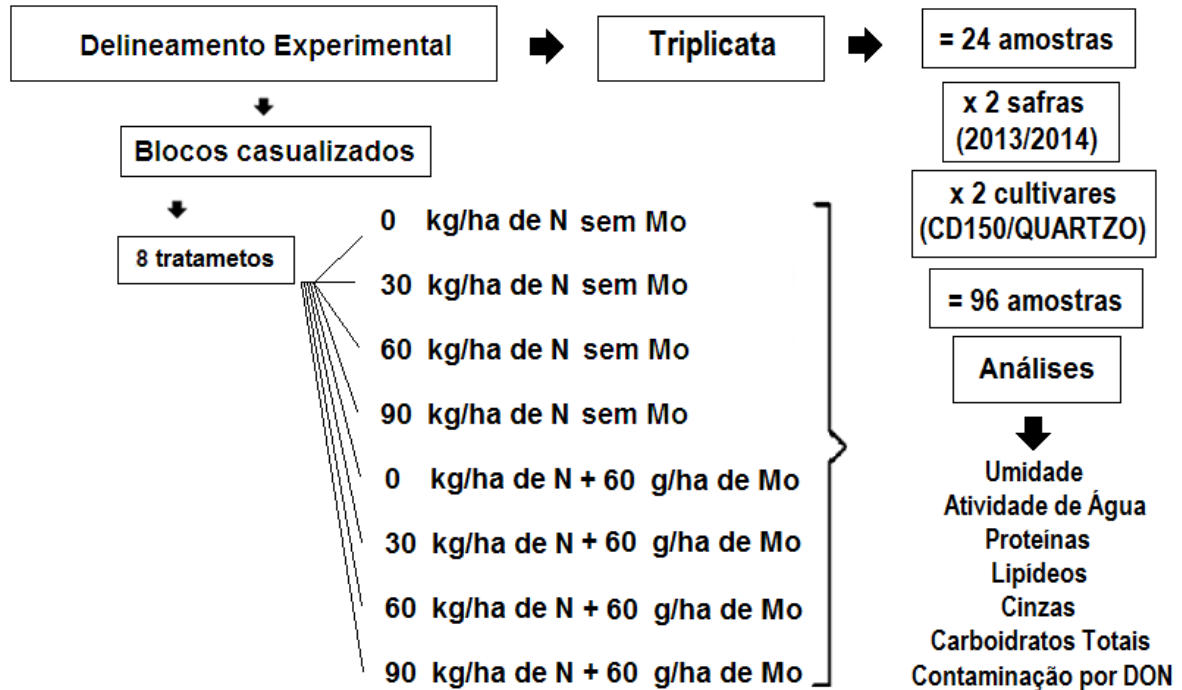
A cultivar QUARTZO apresenta ciclo médio e pertence a classe comercial trigo pão. A planta atinge o espigamento em 91 dias e a maturação classificada como média, altura média de 85 cm, sendo moderadamente resistente ao acamamento, mosaico e manchas foliares e moderadamente suscetível a giberela. A cultivar é indicado para o Estado do Paraná nas regiões 1, 2 e 3 de Valor de Cultivo e Uso (VCU), com densidade recomendada de 300 a 330 sementes viáveis m^{-2} . Outras características são o hábito vegetativo intermediário a semi-ereto, perfilhamento médio, grão de cor vermelha e textura dura (BIOTRIGO, 2008).

4.1.3 Delineamento Experimental

O experimento foi conduzido em blocos casualizados, disposto em um esquema fatorial 4×2 , com N nas doses de 0, 30, 60 e 90 kg.ha^{-1} e Mo nas doses nula e de 60 g.ha^{-1} , gerando 8 tratamentos utilizando amostragem em triplicata. As duas cultivares foram avaliadas separadamente durante duas safras (2013 e 2014). A Figura 3 apresenta o fluxograma geral do experimento. No campo, as parcelas

foram compostas por 14 linhas de 6 m de comprimento, espaçadas em 0,17 m, totalizando 14,28 m² por parcela; a área útil de parcela foi composta por 8 linhas centrais de 4 m, correspondente a 5,44 m².

Figura 3 – Fluxograma geral do experimento.



4.1.4 Procedimento Operacional

O trigo foi semeado mecanicamente em sistema de semeadura direta (semeadora adubadora) nos dias 08/05/2013 e 08/05/2014, obtendo-se uma densidade aproximada de 300 plantas m⁻², ou 50 plantas m⁻¹ linear (considerando a taxa de germinação), distribuindo-se 65 sementes m⁻¹ linear com espaçamento de 0,17 m entre linhas.

Os tratos culturais foram realizados conforme Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale (2014). A área experimental foi monitorada semanalmente perante aparecimento de sintomas de doenças e, estádios de desenvolvimento de trigo. O controle de plantas daninhas foi manual, no período crítico da cultura. A colheita mecanizada de parcelas foi realizada no estádio 11.4, correspondente a maturação de colheita com umidade dos grãos inferior a 20% (LARGE, 1954).

Todo o grão produzido no experimento foi colhido manualmente, minimizando a probabilidade do erro de amostragem no campo. Os grãos inteiros, devidamente empacotados em sacos de papel pardo, separados por amostras e identificados foram armazenados a 4°C por 1 ano (amostras de 2014) e 2 anos (amostras de 2013). A limpeza foi realizada previamente à moagem em moinho de martelo/rotor a 30 “*mesh*” (MOD MA-090, Marconi[®], Piracicaba-SP, Brasil), procedendo-se a higienização do equipamento entre amostras com álcool a 70%. As amostras moídas foram armazenadas a -18° C até a análise.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Análises Físico-Química

4.2.1.1 Umidade

Para a determinação da umidade das amostras de farinha de trigo, dois gramas (g) de amostra foram colocados em cápsula de metal, previamente tarada. A cápsula com a amostra úmida foi aquecida durante 12 horas em estufa a 105° C (MOD NV 1.5, Nevoni[®], São Paulo, Brasil), posteriormente resfriada em dessecador até temperatura ambiente e pesada até o peso constante (IAL, 2008).

4.2.1.2 Atividade de água (aw)

A determinação de aw em amostras foi realizada empregando o equipamento Aqualab (MOD 4TE, Decagon Devices[®], Pullman, Estados Unidos), seguindo especificações descritas pelo fabricante (24,93±0,07° C).

4.2.1.3 Proteínas

A determinação do teor de Proteínas da farinha de trigo foi realizada pelo Método Kjeldahl. Em um tubo de digestão foram adicionados 2,5 g de catalisador, 0,2 g da amostra do trigo triturado (farinha) e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. O tubo permaneceu em bloco digestor (MOD TE-40/25, Tecnal[®], Piracicaba, Brasil), a 400° C até o líquido tornar-se azul transparente. Após

resfriamento da amostra digerida, foram adicionadas 10 mL de água destilada. No destilador de nitrogênio (MOD TE-036/1, Tecnal[®], Piracicaba, Brasil), foi adicionado ao tubo NaOH à 50%, neutralizando o pH da amostra, e um volume de 50 mL do destilado foi coletado em erlenmeyer contendo 10 mL de ácido bórico 2% e seis gotas de indicador misto. Em seguida, o destilado foi titulado com ácido sulfúrico 0,02 N e o teor total de nitrogênio convertido em proteína pelo fator 5,7 (AOAC, 1995).

$$\text{Proteína total (\%)} = \frac{V \times f \times 0,0014 \times 5,7 \times 100}{P(g)}$$

Onde:

V = Volume gasto de ácido na titulação.

f = Fator de correção do ácido (1,035).

0,0014 = miliequivalente grama do nitrogênio.

5,7 = Fator de conversão do nitrogênio em proteína.

P = Peso da amostra.

4.2.1.4 Lipídeos

O teor de Lipídeos foi determinado pelo Método Soxhlet. Em um béquer de 250 mL foram hidrolisadas 5 g de cada amostra utilizando 50 mL de ácido clorídrico 4M, adicionado de 100 mL de água quente. O béquer contendo a amostra foi aquecido em bloco digestor (MOD TE-40/25, Tecnal[®], Piracicaba, Brasil), a 300° C por 30 minutos a partir do início da fervura. O material hidrolisado foi filtrado em papel filtro e lavado com aproximadamente 600 mL de água destilada para neutralização do pH. O papel filtro contendo a amostra lavada, posteriormente, foi seco em temperatura ambiente (IAL, 2008).

O papel filtro com a amostra hidrolisada foi acoplado ao balão previamente tarado e levado ao extrator de Soxhlet (MOD TE-188, Tecnal[®]; MOD MA-487, Marconi[®], Piracicaba, Brasil). A extração ocorreu por refluxo de 150-200 mL de éter de petróleo em aquecimento. Após 3 horas de processo, o balão foi retirado do extrator, mantido em estufa a 125°C (MOD NV 1.5, Nevoni[®], São Paulo, Brasil) por 12 horas, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado (AOAC, 1995).

4.2.1.5 Cinzas

O teor de cinzas foi determinado pelo Método de resíduos obtidos por incineração. Cápsulas de porcelana foram previamente aquecidas por 1 hora em mufla a 550° C (MOD 318D24, Quimis[®], Diadema, Brasil), resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Dois gramas de amostra foram carbonizadas em cápsula tarada com o auxílio de bico de Bunsen. Em seguida, as cinzas foram incineradas em mufla a 550°C, até apresentarem coloração branca ou ligeiramente acinzentada (aproximadamente 12 horas). Depois de incineradas, as amostras foram retiradas da mufla, resfriadas até temperatura ambiente e pesadas. O teor de cinzas foi calculado através da diferença entre o peso final e inicial da cápsula com amostra dividido pelo peso da amostra (IAL, 2008).

4.2.1.6 Carboidrato total

O teor de carboidrato total foi calculado pela diferença de teores de cinzas, lipídios, proteína e umidade:

$$\% \text{Carboidrato total} = 100\% - (\% \text{ Umidade} + \% \text{ Proteína} + \% \text{ Lipídios} + \% \text{ Cinzas})$$

4.2.1.7 Aquisição dos espectros Vis-NIR

A farinha de trigo foi analisada no espectrômetro NIR modelo XDS Near-Infrared modelo XM série 1100 - Rapid Content Analyser (Foss NIRSystems, Silver Spring, MD, EUA), para aquisição dos espectros em absorvância ($-\log(1/R)$) no intervalo de 400 a 2500 nm, em intervalos de 2,0 nm. A quantidade de amostra utilizada durante a aquisição foi de aproximadamente 2,0 g de farinha de trigo, em que cada amostra foi colocada de forma homogênea em célula de quartzo específica para sólidos, denominada de *spinning*. Cada espectro representa a média de 32 leituras no equipamento. A limpeza da célula entre amostras foi feita com auxílio de um pincel e papel macio seco para minimizar processos de contaminação cruzada.

Após a coleta dos espectros Vis-NIR, os mesmos foram pré-tratados, com objetivo de minimizar efeitos espectrais exteriores, para posterior, avaliação da potencialidade e agilidade desta técnica frente a outros métodos

oficiais, quanto a predição de algumas propriedades físico-químicas da farinha de trigo, como: umidade, cinzas, lípideos, proteínas e carboidratos, com modelos matemáticos criados pelo próprio software do equipamento WinISI IV v.4.2 (Foss NIRSystems/Tecator Infracsoft International, LC Silver Spring, MD, EUA). Para a criação do conjunto de calibração foram utilizadas 100 amostras de farinha de trigo (CD150 e Quartzo) de ambos os períodos (2013 e 2014); e para o conjunto preditivo, para validar os modelos criados, foram utilizados 30 amostras. Os modelos matemáticos criados através do software WinISI foram por meio das regressões dos mínimos quadrados parciais (PLS) e dos componentes principais (PCR).

4.2.2 Determinação de Desoxinivalenol - DON

4.2.2.1 Calibração de padrão

A solução de desoxinivalenol foi ressuspenso em metanol grau HPLC (J. T. Baker[®], Xalostoc, México) e a absorvância determinada a 220 nm (espectrômetro UV-visível, MOD Libra S22, Biochrom[®], Cambridge, Reino Unido), previamente calibrado segundo Instrução Normativa nº 9, de Março/2000 (BRASIL, 2000). A concentração foi determinada utilizando-se a seguinte fórmula (MALONE, 2001):

$$\frac{A \times CF \times MM \times 1000}{\epsilon} = \text{Concentração de micotoxina } (\mu\text{g.mL}^{-1})$$

Onde:

A = Absorvância da micotoxina;

CF = Fator de correção do espectrofotômetro (0,965376782);

MM = Massa molecular da micotoxina desoxinivalenol (296,1);

ϵ = Absortividade molar da micotoxina desoxinivalenol em metanol (6129).

Após a determinação da concentração, o padrão foi utilizado para preparo da curva de calibração para ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) (15,625, 31,25, 125, 250, 500, 1000 ng.mL⁻¹) e ensaio de recuperação.

A curva de calibração foi plotada a partir da média de 7 curvas padrão (SOARES, 2006), relacionando Log da concentração de DON (ng.mL⁻¹) e

porcentagem de ligação de acordo com a absorvância da amostra (OUBIÑA et al., 2000).

O limite de detecção foi determinado, calculando a média do branco com anticorpo primário e subtraindo 3 x desvio padrão dos valores de absorvância do controle negativo (0 ng.mL⁻¹ de DON, 100 % ligação), e o limite de quantificação foi determinado pela subtração de 7 x desvio padrão dos valores de absorvância do controle negativo obtidos em triplicata, sendo o cálculo realizado em diferentes dias.

4.2.2.2 Teste recuperação

Para o teste de recuperação ou eficácia do método, um *pool* foi constituído, misturando 10 g de oito amostras de trigo aleatoriamente selecionadas. A seguir, as amostras foram contaminadas com DON diluído em metanol (500, 1000 e 1500 µg.kg⁻¹), em triplicata, mantendo-se em repouso a 25°C por 16 horas em estufa BOD (MOD TE-39, Tecnal[®], Piracicaba, Brasil), para evaporação do solvente (DOS SANTOS et al., 2011). Após extração, DON foi determinado por ELISA Competitivo indireto (ic-ELISA). O valor de branco (sem adição de DON) foi subtraído do valor total obtido.

4.2.2.3 ELISA-competitivo indireto

A determinação de DON por ic-ELISA foi realizado empregado anticorpo monoclonal de acordo com método descrito por Kawamura (2005) e dos Santos et al. (2011).

Cinco gramas de trigo triturado (30 *mesh*) adicionado de 40 mL de metanol 70%, foram homogeneizadas em erlenmeyer de 250 mL a 150 rpm/30 minutos a 10 °C (incubadora refrigerada, MOD MA-830/A, Marconi[®], Piracicaba, Brasil), seguido de centrifugação a 800 *xg*/5 minutos a 10°C (MOD 5804 R (Eppendorf AG[®], Hamburg, Alemanha). O sobrenadante foi armazenado a -18 °C por 18 horas (MOD FE26, Electrolux[®], Manaus, Brasil). A amostra foi novamente centrifugada a 2250 *xg*/5 minutos e o sobrenadante dividido em alíquotas de 400 µL e seco a 40 °C sob nitrogênio gasoso (banho-maria, MOD MA-127, Marconi[®], Piracicaba, Brasil). As alíquotas foram armazenadas a -18 °C até o momento das análises por ic-ELISA.

Microplacas de ELISA (Corning[®], Corning, Estados Unidos) foram sensibilizadas com 50 µL de DON-HS-OVA (DON- Hemissuccinato-Ovoalbumina, 2 µg.mL⁻¹) (cedido por Dr. Osamu Kawamura, *Kagawa University*, Japão), diluído em PBS (Tampão Fosfato Salino), e incubada a 4 °C por 16 horas em câmara de refrigeração (5 ± 3 °C, 6 m de comprimento/3,5 m de largura/ 2,8 m de altura). Em seguida, foram lavadas as placas em lavadora de microplaca (MOD BSII, Bras-Serum[®], São Paulo, Brasil), utilizando PBST (Tampão salino fosfato Dubbecco's 0,015 M pH 7,3 com 0.05% Tween 20) por 3 vezes. O bloqueio da microplaca foi realizado com 100 µL de solução BSA (albumina de soro bovino) 0,1% em PBS, e incubação a 37 °C por 1 hora (estufa bacteriológica, MOD NT 525, Novatecnica[®], Piracicaba, Brasil). As placas quando não utilizadas após o bloqueio foram mantidas por no máximo 24 horas (5 ± 3 °C, 6 m de comprimento/3,5 m de largura/ 2,8 m de altura; Refrigeração José Von Stein e Cia LTDA).

Para utilização, a microplaca foi lavada por três vezes com PBST (lavadora de microplaca ELISA MOD BSII, Bras-Serum[®], São Paulo, Brasil) e adicionado 50 µL de amostra ou padrão, ressuspenso em 400 µL de metanol:PBST (1:9, v/v), juntamente com 50 µL anti-DON (hibridoma anti-DON.3 cedido por Dr. Osamu Kawamura, *Kagawa University*, Japão) diluído em PBS (1:2000 v/v), com posterior incubação a 25 °C por 1 hora (MOD NT 525, Novatecnica[®], Piracicaba, Brasil).

Após lavagem com PBST (3 vezes), foi adicionado a placa 50 µL de Anti-IgG conjugado com enzima HRP (A4416 - Sigma Aldrich[®], St. Louis, Estados Unidos), diluído em PBST (1:2000, v/v), e incubada a 25°C por 1 hora em BOD.

Após incubação foi realizada nova lavagem com PBST (6 vezes), adicionando substrato cromógeno (TMB, 100 µL). Para o preparo do TMB foi utilizado uma alíquota de 100 µL da solução de 3,3',5,5'-tetramethyl-benzidina – TMB (10 mg de TMB em 1 mL de dimetilsulfóxido - DMSO) adicionada em 10 mL de tampão acetato de sódio 0,1 M a pH 5,0 e, no momento de uso, acrescentada com 100 µL de H₂O₂ 0,5 %, procedendo homogeneização manual lenta.

Posterior à adição do substrato cromógeno TMB realizou-se a incubação a 25°C por 20 minutos, e adição de H₂SO₄ 1M (50 µL) para parar a reação de cor. A leitura da placa foi realizada a 450 nm em espectrofotômetro com leitora para microplaca (MOD Asys Expert Plus, Biochrom[®], Cambridge, Reino Unido).

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância para doses de nitrogênio e de molibdênio, regressão para as doses de nitrogênio, e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância utilizando programa ASSISTAT. Os dados obtidos por NIR e pelos métodos convencionais de composição química foram comparados utilizando programa STATISTICA 7.0 por regressão multivariada por mínimos quadrados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 é apresentada a composição química do solo na área experimental na fase anterior à instalação de experimento. Avaliando o perfil de solo, constatou-se baixa média da CTC (capacidade de troca catiônica) no ano 2013 (CTC = 7,22 cmolc. dm⁻³, profundidade de 0-10 e 0-20 cm). A reduzida CTC do solo indicou falha na força de retenção de cátions (Ca²⁺, Mg²⁺ e K⁺), recomendando-se calagem e o parcelamento (semeadura e cobertura) da adubação, cujo manejo evitaria a perda por lixiviação e elevaria a distribuição de nutrientes ao longo do ciclo da cultura. Em 2014, a CTC na profundidade de 0-10 cm e 0-20 cm elevou-se para 9,50 cmolc. dm⁻³, indicando melhora na dinâmica e disponibilidade de nutrientes do solo para a planta.

Na Tabela 3 também é demonstrado que a saturação de base (65,82%) esteve dentro do intervalo padrão de 50 e 80% requerido para a produtividade adequada (RONQUIM, 2010). Contudo, o pH 5,49 e 5,40 obtido nas análises de 2013 e 2014, respectivamente, seria limite mínimo à cultura do trigo. O valor ideal, situado entre 5,5 a 6,0, neutralizaria a toxidez de alumínio, equilibrando o aproveitamento de nutrientes e adequando a condição perante liberação de nutriente retido na matriz orgânica (KRAY, 2004).

Na Figura 4 é apresentada a condição climática (precipitação pluvial e temperatura média) durante os 126 dias de ciclo com dados fornecidos pelo INMET. Em 2013 ocorreu elevada precipitação pluvial no decorrer do ciclo da cultura, com total acumulado de 534,4 mm entre a semeadura e a colheita em ambas as cultivares (126 dias), mesmo com estiagem de até 39 dias (25/07 a 02/09/13). Em 2014 houve menor precipitação pluvial com 340 mm durante o ciclo da cultura, mas com estiagem de até 18 dias (26/07 a 12/08/14) (IAPAR, 2017). Libardi e Costa (1997) demonstraram o consumo médio de água 347,2 mm para o trigo cultivar IAC-24 durante um ciclo de 115 dias, equivalente a 3,02 mm de consumo diário médio em Piracicaba-SP.

A precipitação pluvial no ciclo da cultura em 2013 atendeu a demanda d'água de 347,2 mm ideal para o trigo, mas apresentou-se desuniforme ao longo do ciclo da cultura. Os 39 dias de estiagem iniciou 68 dias pós-emergência de planta e se prorrogou até 107 dias, interferindo no final da alongação de colmo, no

emborrachamento, florescimento, e estágios de grão leitoso e farinhoso. A precipitação pluvial de 340 mm em 2014 não atendeu a exigência hídrica da cultura, mas estando próximo ao nível ideal, o período de estiagem não prejudicou representativamente o desenvolvimento da cultura. A estiagem de 2013 e a reduzida precipitação média durante o ciclo em 2014 podem ser motivos relacionados ao encurtamento do ciclo da cultivar QUARTZO, fazendo com que sua maturação se igualasse a CD150 em ambos os anos.

Na Figura 4 são apresentados a temperatura média durante o ciclo de cultura, sendo que a média diária não deve ter causado efeito relevante em 2013 e 2014, exceto a temperatura mínima registrada de 0,4°C do dia 24/07/2013 (geada branca). A geada atingiu o estágio de alongação de colmo, o que pode prejudicar / mascarar respostas perante adubação de cobertura, já que a baixa temperatura afeta a translocação de nutrientes na formação de espiga. A partir do estágio de alongamento, geadas mais severas forte provocariam "queima" de folha e "estrangulamento" no colmo de trigo, prejudicando severamente a translocação de nutrientes (EMBRAPA TRIGO, 2000). O "estrangulamento" resulta do rompimento de parede celular nos pontos de crescimento/alongamento de entrenós.

5.1 EFEITO DE ADUBAÇÃO N-MO NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

5.1.1 Análise Bromatológica

O incremento de N e Mo não alterou significativamente a atividade de água (a_w), teores de umidade, cinzas e lipídeos das amostras ($p > 0,05$, Tabela 4). A média de a_w situou-se em 0,533 para a cultivar CD150 e 0,551 para a QUARTZO (Tabela 5 e 6), considerada faixa segura sob ponto de vista sanitário perante patógeno bacteriano, já que substrato com $a_w < 0,60$ dificilmente propiciaria o crescimento microbiano (GARCIA, 2004). A umidade máxima de 12,65% e mínima de 9,56, com o teor médio em 11,14% para CD150 e 10,94% para QUARTZO (Tabelas 5 e 6), indicaram que nenhuma amostra ultrapassou o limite de 13%, recomendado para grão de trigo e proposto pela Instrução Normativa nº 38, 30 de novembro de 2010 (BRASIL, 2010).

O teor de cinzas de 1,62% em cultivar CD150 e 1,49% em QUARTZO (Tabelas 5 e 6) classificou as amostras como farinha integral por

apresentar o teor > 1,35% (Portaria nº 354, 18 de julho de 1996), enquadrando em farinha integral para uso doméstico (limite máximo de 2% de cinzas), ou industrial (máximo de 2,5%), obedecendo requisito específico para cada segmento de aplicação (BRASIL, 1996). A média de cinzas em grão de trigo situa-se entre 1,5 – 2,1%, com a maior fração localizada na camada mais externa de grão integral, portanto a farinha resultante, sem esta camada conteria menor teor (SENAI, 2009). O teor médio de lipídeo de 2,30% em cultivar CD150 e 2,28% em QUARTZO apresentou-se dentro da faixa aceitável de 1% a 3% (ZARDO, 2010).

A dose de N alterou significativamente o teor protéico em ambas as cultivares seja na safra 2013 como 2014 ($p < 0,05$, Tabela 4), elevando o teor em 26% na cultivar CD150, safra-2013 e 31%, safra-2014; 35% em cultivar QUARTZO, safra-2013 e 30% em 2014. O incremento de N elevou linearmente o teor de proteína (Figura 5). As tabelas 5 e 6 apresentam as médias do teor de proteína sob as diferentes doses de N na cultivar CD150 e QUARTZO. A dose de Mo alterou significativamente o teor de proteínas em ambas cultivares na safra-2013 ($p < 0,05$), mas não houve diferença significativa em 2014, embora indicasse uma tendência de aumento (Tabelas 5 e 6). O incremento de Mo elevou o teor de proteína em 11% (correspondente ao aumento de 12,26 para 13,59%) na cultivar CD150 e 6% (correspondente ao aumento de 11,03 para 11,66%) na QUARTZO na safra-2013 (Tabelas 5 e 6).

A elevação de teor protéico pela adubação com Mo seria decorrente da participação do cátion no complexo enzimático de nitrato redutase, responsável pela redução de nitrato a nitrito durante assimilação de N do solo (Taiz e Zeiger, 2012). A planta suprida com Mo provavelmente assimilou uma quantidade adicional de N em relação ao aumento no teor proteico já constatado pela adubação nitrogenada (Soares SOBRINHO, 1999; PINNOW et al., 2013; SOUZA et al., 2014). O fato favoreceria o crescimento / vigor vegetal, cuja resistência contra patógenos e doenças fúngicas também reduziria a consequente contaminação por micotoxinas na matéria-prima.

Rosa Filho (2010) relatou que o teor protéico no grão de trigo – de 8% até 18% – seja determinado principalmente pela disponibilidade de N; um trigo adequado para panificação deve conter no mínimo 12% de proteína. Ambas as cultivares apresentaram valor médio de proteína superior a 12%, com a cultivar CD150 apresentando média de 12,92% (safra-2013) e 12,28% (2014) com média

geral de 12,60% (Tabela 5). A cultivar QUARTZO apresentou 11,35% (2013) e 12,86% (2014) com média geral de 12,10% (Tabela 6). A diferença entre CD150 e QUARTZO provavelmente ocorreu por possuírem características morfológicas e fisiológicas diferentes geneticamente e por pertencerem a classes diferentes; a cultivar CD150, enquadrada como trigo melhorador, apresentaria força de glúten superior e, naturalmente maior teor protéico.

O N é translocado de tecido para a espiga durante o enchimento de grãos de trigo e utilizado na síntese protéica, sendo a maioria absorvido no estágio anterior à floração (ROSA FILHO, 2010). Em geral, o fornecimento precoce de N aumenta o rendimento (estádio de perfilhamento), sendo menos direcionado para elevar o teor protéico de grão. A disponibilização tardia de N (estádio de espigamento-floração) aumenta o teor protéico de grão, mas apresenta menor impacto no rendimento de grão. O fato demonstra que o aumento no teor de proteína poderia ser maior com a reestruturação do parcelamento de adubação nitrogenada, controlando a distribuição entre o estágio de perfilhamento e espigamento e, conseqüentemente valorizando a qualidade industrial de trigo.

A dose de N alterou significativamente o teor de carboidrato em ambas cultivares nas safras de 2013 e 2014 ($p < 0,05$, Tabela 4). O incremento de N diminuiu o teor de carboidrato total na cultivar CD150 em aproximadamente - 4% e na cultivar QUARTZO em - 5% em ambas as safras. Nas tabelas 5 e 6 são apresentadas as diferentes médias dos teores de carboidrato com relação as doses de N e com relação a presença da adubação por Mo na cultivar CD150 e QUARTZO respectivamente. A figura 6 apresenta a redução linear no teor de carboidrato em cultivo com incremento de N.

. O teor de carboidrato foi alterado pela dose de Mo apenas em 2013 na cultivar CD150 (Tabela 4). O incremento de molibdênio na adubação de cobertura reduziu o teor de carboidratos em aproximadamente 2 % (Tabelas 5 e 6).

A redução no teor de carboidrato total, observada nas Tabelas 5 e 6, seja na safra 2013 como em 2014 perante incremento da adubação de N e de Mo, provavelmente decorreu devido ao aumento no teor de proteína no grão em resposta ao incremento de N ($p < 0,05$). Segundo Wingler et al. (2006), a deficiência de N pode conduzir ao acúmulo de açúcar, resultante da diminuição da biodegradação de esqueleto carbônico em direção à síntese de aminoácidos e proteínas. Teores de açúcares e N mostraram mudanças distintas durante a senescência foliar, com

acúmulo de açúcar em simultaneidade com o declínio nos níveis de aminoácido (DIAZ et al., 2005), sendo que a deficiência de N geralmente resulta no acúmulo de carboidratos não-estruturais (KOVAČEVIĆ et al., 2012).

5.1.2 Análise por NIR

5.1.2.1 Pré-tratamento espectral

A Figura 7 apresenta a análise espectral de farinha obtida dos grãos de trigo e os respectivos pré-tratamentos (espectro referente ao total de 96 amostras analisadas). Primeiramente, os espectros Vis-NIR de amostras foram submetidos a um pré-tratamento espectral, visando minimizar e eliminar ruídos espectrais causados pela granulometria ou determinados interferentes espectrais (PASQUINI, C, 2003).

A aplicação de técnicas de alisamento ou *smooth* visa reduzir matematicamente o ruído aleatório que acompanha o sinal analítico. O *smooth* é dado por uma média móvel empregada um número de pontos fixos, em que os dados são ordenados em grupo e ajustados pelo método de mínimos quadrados (SIESLER, et al, 2002).

A variação de padrão normal ou *Standard Normal Variate Method* (SNV) foi utilizada para minimizar interferências causadas pelo tamanho de partículas e diferenças de densidade das amostras. Já a correção multiplicativa de sinal ou do inglês *Multiplicative Scatter Correction* (MSC), foi bastante semelhante ao SNV, utilizado para corrigir o efeito da difusão de luz causada pela reflectância difusada devido a superfície heterogênea de matriz em análise (NAES, ISAKSSON, FEARN e DAVIES, 2002; SABIN, FERRÃO e FURTADO, 2004).

O *detrend* foi aplicado para remover efeito de deslocamento de linha de base e curvilíneos. O método modelou a linha de base em função do comprimento de onda através da equação de segundo grau, sendo a função subtraída em seguida, independentemente de cada espectro (LUYAPERT et al., 2002).

As derivadas visaram conferir maior ênfase a picos (máximos e mínimos), permitindo um aumento na resolução e eliminando efeito aditivo. Os métodos derivativos poderiam também eliminar interferências devido a tamanho de

partículas (OSBORNE, 2000). A primeira derivada removeu efeito aditivo de linha de base do espectro, semelhante ao detrend, mas evidenciou majoritariamente características pequenas, face a características com maior intensidade. Já a segunda derivada apresentou ruído espectral com maior intensidade em relação à primeira derivada, porém amplificou regiões espectrais muito restritas (CONZEN, 2006).

5.1.2.2 Modelos Preditivos

A Tabela 7 apresenta os modelos de calibração com os melhores coeficientes de determinação (R^2), juntamente com os respectivos erros padrão de calibração (SEC). Na etapa utilizou-se os espectros com pré-tratamento espectral de SNV, MSC, *Detrend* e as respectivas derivadas, com objetivo de obter melhores explicações nos ajustes dos modelos de calibração.

A validação de modelos foi executada apenas aos que apresentaram R^2_{aj} superior à 0,50, correspondente às variáveis proteína, carboidratos, lipídeos e cinzas. A umidade apresentou coeficiente de determinação inferior a 0,50, sendo o fato provavelmente estar relacionado com o processo de congelamento / descongelamento de amostras requerido para executar diversos procedimentos de análise (BURNS e CIURCZAK, 2008).

A partir de dados tratados com segunda derivada dos espectros NIR (Figura 7) realizou-se uma seleção de variáveis visando maximizar a variância entre as amostras analisadas (Tabela 8). Para isto utilizou-se análise multivariada de determinados possíveis sobretons espectrais da literatura, que apresentaram maiores diferenças entre os valores de $-\log(1/R)$ nas amostras de farinha de trigo (BURNS e CIURCZAK, 2007).

5.1.2.3 Validação de Modelo

A Figura 8 representa a validação do modelo de predição para as variáveis referentes à proteína, carboidratos, lipídeos e cinzas juntamente com os respectivos coeficientes de determinação de validação (R^2_v) e erro padrão de predição (SEP). A figura indica que os modelos apresentaram correlação com $R^2_v =$

0,89 para teor de proteína, $R^2_v = 0,84$ para teor de carboidratos, $R^2_v = 0,93$ para teor de lipídeos e $R^2_v = 0,73$ para teor de cinzas

Comparando a espectroscopia NIR de 30 amostras validadas em relação aos resultados determinados por análise bromatológica clássica e oficial recomendada pela AOAC (Figura 9), os dados indicaram que cerca de 85,0% das amostras (n=30) apresentaram desvio padrão relativo inferior a 5 % perante determinação de proteína e cinzas e 100 % das amostras apresentaram apresentaram desvio padrão relativo inferior a 5 % referente aos parâmetros de carboidratos totais e lipídeos. O fato demonstra que o NIR apresentou elevado potencial como ferramenta rápida não destrutiva de baixo custo, plausível de aplicação no controle de qualidade e decisão / orientação no procedimento em campo.

5.2 EFEITO DE ADUBAÇÃO N-MO NA CONTAMINAÇÃO POR DON

A figura 10 apresenta a curva padrão de ic-ELISA desenvolvido e padronizado com anticorpo monoclonal produzido por hibridoma anti-DON.3 em Laboratório e, destinado para a determinação de DON em farinha de trigo integral obtido de grãos sob tratamento de adubação N-Mo. A curva padrão matrizada confeccionada com DON diluído a 15,625; 31,25; 125; 250; 500; 1000 ng.mL⁻¹ permitiu obter a equação $y = -3,75\ln(x) + 130,75$ e, coeficiente de determinação (R^2) de 0,9975.

A Tabela 9 apresenta a recuperação de DON em grão de trigo triturado a 30 *mesh* por ic-ELISA. A Comunidade Europeia (2006) recomenda o uso de métodos apresentando recuperação entre 60 e 120% e, desvio padrão relativo (DPR) inferior a 20%. O imunoensaio ic-ELISA desenvolvido apresentou a recuperação entre 93 e 101% (média de $97 \pm 0,08\%$) e CV máximo de 8%, com DPR de 3,19% na recuperação de 500 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DON; DPR de 11,24% na recuperação de 1000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$; DPR de 10,34% na recuperação de 1500 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

O ic-ELISA desenvolvido com anticorpo monoclonal anti-DON apresentou limite de detecção (LD) de 254,01 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (cultivar CD150) e 239,6 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (QUARTZO); limite de quantificação (LQ) de 422,89 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e 365,8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ para as cultivares CD150 e QUARTZO respectivamente. Embora o LD encontrado seja superior a 177,2 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, obtido anteriormente por Santos et al. (2011), salienta-se

que o imunoenensaio padronizado apresentou o nível de sensibilidade suficiente para detectar contaminação $<300 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (LD) e quantificação $<450 \mu\text{g.kg}^{-1}$, portanto atende a legislação brasileira proposta pela ANVISA/MS (BRASIL, 2011), assim como o limite de $500 \mu\text{g.kg}^{-1}$ proposto pela Comunidade Europeia (2016).

Salienta-se que a legislação brasileira propõe limite de $750 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para farinha de trigo processado e limite de $1000 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para farinha integral (BRASIL, 2011).

Outrossim, a diferença em LD e LQ entre as duas cultivares (Tabela 10 e 11) apontaram a necessidade de cuidado especial ao avaliar a sensibilidade / especificidade de imunoenensaio em uso para o controle de qualidade na rotina laboratorial, principalmente se pretender empregar *kits* comerciais de custo bastante elevado, portanto sem condição de performance perante intensiva repetição laboratorial. A autossuficiência na produção de imunorreagentes permitiu esta repetitividade e conferição de ensaios (Tabela 9, 10, 11 e Figura 10), em consideração à redução no custo em fator de 100 a 160 vezes em comparação ao *kit* comercial importado (TAKABAYASHI YAMASHITA, 2013).

As Tabelas 10 e 11 apresentam o perfil perante possibilidade de contaminação com DON em trigo produzido, baseado em média e máxima contaminação, sendo avaliado em estudo envolvendo um total de 96 amostras oriundas de campo experimental sob tratamento com adubação N-Mo.

A contaminação por DON em cultivar CD150 e QUARTZO em duas safras apresentaram-se abaixo do limite de $750 \mu\text{g.Kg}^{-1}$, previsto para farinha de trigo, conforme Resolução - RDC nº 59, de 26 / dezembro / 2012 (Tabela 2, BRASIL, 2011). A vigência deste limite em farinha de trigo iniciou-se em janeiro / 2017, sendo que nenhuma amostra ultrapassou o valor proposto, com o máximo observado de $578,84 \mu\text{g.Kg}^{-1}$. Os dados indicam que a média de contaminação por DON na região de Londrina-PR ($454,97 \mu\text{g.kg}^{-1}$, Tabela 10 e 11) apresentaram-se inferior à média do Estado do Paraná obtido no estudo anterior envolvendo trigo de fazendas experimentais distribuídas no Estado do Paraná, ano 2010 e 2011; no estudo, o ic-ELISA detectou positividade de DON em 243 amostras de um total de 244, com o valor médio de $1364,1 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ (HIROOKA et al., 2015).

Tendo em vista a contaminação de DON em nível inferior ao limite estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 2011), assim como pela Comunidade Europeia (2016), a interpretação e avaliação subsequente de

contaminação baseou-se em LD e LQ determinado para a referida análise por ic-ELISA (Tabelas 10, 11, 12 e 13).

As Tabelas 10 e 11 indicam que 30,20% das amostras apresentaram traços de DON (nível >LD) enquanto que foi quantificado em 12,5% das amostras (nível >LQ) somando as duas safras e duas cultivares. Avaliando em detalhe, o trigo pertencente à safra 2013 não apresentou nível de DON>LQ, sendo que apenas 3 (6,25%) amostras do total de dois cultivares apresentaram nível de DON>LD. A safra de 2014 apresentou DON>LQ em 12 (25%) amostras, sendo 26 (54,16%) contaminadas com nível de DON>LD.

No cômputo geral, a cultivar CD150 apresentou DON>LQ em 6 amostras (12,5%), com a média de contaminação de 520,29 $\mu\text{g.kg}^{-1}$; se considerar o nível traço - DON>LD, 17 (35,41%) estiveram contaminados (Tabela 10). A cultivar QUARTZO apresentou DON>LQ em 6 (12,5%) amostras, com a média de contaminação de 389,65 $\mu\text{g.kg}^{-1}$; 12 amostras (25%) com DON>LD (Tabela 11).

A maior contaminação e maior média de contaminação da cultivar CD150 (Tabela 10), comparado a QUARTZO (Tabela 11), provavelmente seja decorrente de diferença na característica genética. A cultivar CD 150 é classificada como geneticamente suscetível à Giberela, se comparada a cultivar QUARTZO classificada como moderadamente suscetível (COODETEC, 2015; BIOTRIGO, 2008). Portanto, os dados demonstraram a importância de fator genético no estabelecimento / infecção de *F. graminearum*, sendo o fator essencial para propiciar maior nível de contaminação por DON. Lima (2004) relata comportamento distinto perante ocorrência de *F. graminearum*, bem como transmissão conforme genótipo cultivar. Bullerman, Schoereder e Park (1984) também apontaram o fator susceptibilidade da variedade entre interferentes essenciais na produção de metabólito fúngico, podendo ocorrer produção simultânea de micotoxinas.

Somado ao fator genético, o baixo nível de contaminação por DON em ambas as safras e cultivares (média geral de 454,97 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) seria decorrente de reduzida precipitação pluviométrica na fase de florescimento (figura 4), seja em 2013 (0 mm, agosto/2013) como 2014 (19,5 mm, agosto/2014), desfavorecendo a infecção fúngica na espiga e conseqüente redução de DON no grão. A safra de 2014 apresentou maior proporção de amostras com DON>LQ e LD possivelmente pela maior pluviometria na fase de florescimento, fase a qual a umidade é um fator limitante para a infecção de *Fusarium* sp.. A fusariose é uma doença altamente

dependente de condição climática no florescimento, a fase que o fungo penetra facilmente no ovário e avança ao longo de espaço intercelular, sem resistência, disseminando em todo o grão. A infecção tardia depara com grão mais impermeável à hifa, restringindo o fungo no pericarpo ou embrião. Em contraste, a exposição em umidade contínua favorece a infecção, bem como dias quentes e úmidos com umidade relativa >70% e temperatura >16°C favorecem o estabelecimento e progresso de infecção por *F. graminearum* em trigo no estágio de floração (CLEAR e PATRICK, 1990).

As Tabelas 12 (cultivar CD 150) e 13 (cultivar QUARTZO) apresentam a distribuição de amostras de trigo com o nível de DON >LQ e LD, conforme resultado de ensaio da área experimental submetida ao tratamento N-Mo somadas duas safras. Os dados correspondem a 48 amostras de cada cultivar, sendo 24 amostras com N em cobertura (0, 30, 60 e 90 kg.ha⁻¹), assim como 24 amostras sob mesmo tratamento de N, adicionado de 60 g.ha⁻¹ de Mo.

O nível de DON, mesmo em cultivar CD150 (susceptível à Giberela), somente excedeu o LQ (422,89 µg.kg⁻¹) em tratamento de adubação nitrogenada de 90 kg.ha⁻¹, seja em experimento com ou sem Mo. Dentre as 48 amostras da cultivar CD150, apenas 6 amostras apresentaram DON>LQ, sendo 3 submetidas à adubação 90 kg.ha⁻¹ de N + 60 g.ha⁻¹ de Mo e 3 submetidas à adubação 90 kg.ha⁻¹ de N sem presença de Mo (Tabela 12).

O nível de DON em cultivar QUARTZO (moderadamente susceptível à Giberela) excedeu o LQ (365,8 µg.kg⁻¹) em grão sob adubação com N em cobertura de 90 kg.ha⁻¹, seja em tratamento com ou sem Mo, assim como na dose de 60 kg.ha⁻¹ de N sem Mo. Dentre as 48 amostras da cultivar QUARTZO, apenas 6 amostras apresentaram DON>LQ, sendo 2 submetidas à adubação 90 kg.ha⁻¹ de N + 60 g.ha⁻¹ de Mo, 2 submetidas à adubação 90 kg.ha⁻¹ de N sem presença de Mo e 2 submetidas à adubação 60 kg.ha⁻¹ de N sem presença de Mo (Tabela 13).

O maior número de amostras com DON>LQ quando adubadas com 90 kg.ha⁻¹ de N - dose máxima testada - em ambas cultivares possivelmente ocorreu devido ao aumento na suscetibilidade à doença causada pela alta dose de N em cobertura (ABDEL-RAHEEM e BIRD, 1967). A dose de N em excesso desencadearia condição favorável para a proliferação de *F. graminearum*, sendo que a aplicação de N suplementar em produção intensiva poderia aumentar a incidência da infecção de sementes (MARTIN, MCLEOD e CALDWELL, 1991).

Consequentemente, a maior infecção por *Fusarium* sp. resultante de N em excesso provavelmente favoreceu a contaminação por DON.

Apesar da resistência de planta contra doenças seja geneticamente controlada, salienta-se também a influência de fatores ambientais, sendo o efeito de fator extrínseco relativamente menor em cultivar com alta resistência ou suscetibilidade, se comparada à moderadamente susceptível (MARSCHNER, 1995). O fato justificaria a ocorrência de DON em cultivar QUARTZO moderadamente susceptível submetida à dose inferior de N de 60 kg.ha⁻¹, além da dose de 90 kg.ha⁻¹ (Tabela 13). Salienta-se que, a adubação de cultivar CD 150 com 60 kg.ha⁻¹ de N não desencadeou a produção de DON em nível detectável (LD = 254,01 µg.kg⁻¹, Tabela 12). Estes dados estariam em conformidade com Marschner (1995), indicando que o trigo geneticamente classificado como moderadamente suscetível à doença aumentava a susceptibilidade de planta a fatores ambientais, a exemplo de adubação nitrogenada, se comparado a cultivares sensíveis.

Por outro lado, embora não houvesse diferença significativa no o nível de DON com e sem adubação de Mo em cobertura ($p > 0,05$) (Tabela 12), as mesmas tabelas permitem uma análise breve sobre tendência perante redução no nível de DON em ensaios realizados com a combinação N-Mo, seja para cultivar CD 150 como QUARTZO (Tabela 12 e 13). Consequentemente, o valor médio de DON em grão pertencente ao cultivar susceptível CD 150 sob cultivo sem Mo atingiu 524,33 µg.kg⁻¹, em relação a 516,24 µg.kg⁻¹ em ensaio com Mo (Tabela 12). O fato poderia ser um indício de uma leve tendência perante redução no nível de DON, decorrente da relação vantajosa entre N-Mo no processo metabólico, i.e., ação de um macronutriente potencializado por micronutriente. O Mo participa em diversas enzimas a exemplo de nitrato redutase, essencial à assimilação de N, especialmente em vegetais exigentes em N como trigo (TAIZ e ZEIGER, 2012).

A mesma tendência não pode ser observada em ensaio com a cultivar QUARTZO moderadamente susceptível (Tabela 13). O fato pode estar relacionado à observação anterior perante fator genético - ambiental, conforme anteriormente discutido.

Outrossim, a confirmação da hipótese referente a interação N-Mo na contaminação por DON em cultivares de trigo requereria ensaios subsequentes, envolvendo principalmente safras com condições de precipitação pluviométrica favoráveis ao fungo no estágio de florescimento do trigo.

6 CONCLUSÃO

O incremento de N diminuiu no teor de carboidrato total e elevou o teor de proteínas.

O incremento de Mo na adubação de cobertura elevou o teor de proteína na safra de 2013 e reduziu o teor de carboidratos na cultivar CD150 na safra de 2013.

A espectrometria NIR apresentou 85% de semelhança com as técnicas da AOAC, para a determinação de proteínas e cinzas e 100% de semelhança para determinação de lipídeos e carboidratos totais ($p < 0,05$) comprovando elevado potencial como método rápido.

O ic-ELISA desenvolvido consistiu em alternativa eficaz na detecção de DON em trigo, possibilitar a análise de um número maior de amostras (15 a 24 amostras em triplicata numa única placa).

A cultivar CD150 apresentou maior média de contaminação de DON comparada a cultivar QUARTZO. As amostras somente excederam o limite de quantificação de DON quando utilizada a adubação nitrogenada de 60 e 90 Kg.ha⁻¹.

Nenhuma amostra apresentou contaminação acima dos limites da Resolução - RDC nº 59, de 26 de dezembro de 2012.

Tabela 3 - Análise química do solo de área experimental - anterior a semeadura de trigo em safra 2013 e 2014.

Profundidade (cm)	Análise do solo										
	P	M.O	pH	H + Al	H	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	CTC	V
	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	CaCl ₂				(cmol dm ⁻³)				%
Safra 2013											
0-10	11,41	29,64	5,49	3,94	3,94	0,00	5,40	1,53	0,87	7,58	66,42
10-20	8,08	27,00	5,49	3,66	3,66	0,00	4,91	1,37	0,57	6,86	65,21
Safra 2014											
0-10	15,84	26,86	5,40	4,96	4,96	0,00	7,90	0,90	0,91	9,71	66,42
10-20	7,61	20,15	5,40	4,61	4,61	0,00	7,30	1,20	0,81	9,30	65,21

Extratores: Mehlich (P, K⁺); KCl 1N (Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺); M.O.: Matéria orgânica; CTC (Capacidade de Troca de Cátions) : Efetiva; V: Saturação por bases

Fonte: Laborsolo Laboratórios. Adaptado pelo autor (2013).

Tabela 4 - Análise de variância (Valor p) – Atividade de água, Umidade, Proteína, Lipídeo, Cinza e Carboidrato em trigo cultivar CD 150 e QUARTZO, em resposta a nitrogênio (N) e molibdênio (Mo) em cobertura, safras 2013 e 2014.

CD150							
Variáveis	GL	a _w	Umidade	Proteína	Lipídeo	Cinza	Carboidrato Total
2013							
Bloco	7	0,3372	0,7669	0,0012	0,4799	0,9792	0,0051
Dose N (N)	3	0,0809	0,5187	0,0003	0,1471	0,8470	0,0016
Dose Mo (Mo)	1	0,5356	0,9531	0,0072	0,7281	0,8686	0,0124
N x Mo	3	0,9741	0,6547	0,9741	0,9033	0,8931	0,9179
CV (%)		2,96	5,18	8,27	0,98	3,82	1,63
2014							
Bloco	7	0,9863	0,9927	0,0012	0,9117	0,9588	0,0581
Dose N (N)	3	0,8287	0,9789	<,0001	0,9982	0,9428	0,0086
Dose Mo (Mo)	1	0,7096	0,7701	0,4388	0,2501	0,7107	0,5272
N x Mo	3	0,9743	0,8658	0,7500	0,7849	0,7243	0,8279
CV (%)		5,30	8,04	7,89	0,83	2,30	2,02
QUARTZO							
Variáveis	GL	a _w	Umidade	Proteína	Lipídeo	Cinza	Carboidrato Total
2013							
Bloco	7	0,6329	0,3129	<,0001	0,8730	0,8970	<,0001
Dose N (N)	3	0,2698	0,2977	<,0001	0,4634	0,8478	<,0001
Dose Mo (Mo)	1	0,7160	0,4450	0,0080	0,7701	0,3884	0,1046
N x Mo	3	0,8408	0,2561	0,3990	0,9791	0,7744	0,3173
CV (%)		2,33	3,32	4,58	0,90	5,68	0,95
2014							
Bloco	7	0,8325	0,9942	0,0009	0,9768	0,9117	0,0028
Dose N (N)	3	0,5394	0,9317	<,0001	0,8987	0,6259	0,0001
Dose Mo (Mo)	1	0,8039	0,6156	0,3629	0,5487	0,8461	0,5556
N x Mo	3	0,7824	0,9712	0,6816	0,9080	0,8725	0,8173
CV (%)		4,28	4,75	7,83	0,89	13,31	1,63

*GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação; a_w = Atividade de água; Nível de significância (p<0,05), representado em negrito.

Tabela 5 – Trigo cultivar CD150: Atividade de água e composição química em resposta ao nitrogênio (N) e molibdênio (Mo) em cobertura, safras 2013 e 2014.

N (kg. ha ⁻¹)	a _w	Composição química (g%)				
		Umidade	Proteína	Lipídeo	Cinza	Carboidrato Total
Safra 2013						
0	0,538a	11,57a	11,30c	2,37a	1,59a	73,17a
30	0,549a	11,07a	12,53bc	2,36a	1,59a	72,46a
60	0,556a	11,19a	13,08ab	2,33a	1,60a	71,79ab
90	0,532a	11,23a	14,79a	2,36a	1,57a	70,01b
Mo (g. ha⁻¹)						
0	0,542a	11,27a	12,26b	2,35a	1,59a	72,53a
60	0,546a	11,26a	13,59a	2,35a	1,59a	71,18b
Média	0,544	11,26	12,92	2,35	1,59	71,85
CV(%)	2,96	5,18	8,27	0,98	3,82	1,63
Safra 2014						
0	0,524a	11,12a	10,50c	2,26a	1,65a	74,49a
30	0,515a	11,00a	11,72bc	2,26a	1,64a	73,38ab
60	0,521a	11,08a	13,19ab	2,25a	1,65a	71,87b
90	0,529a	10,91a	13,74a	2,26a	1,65a	71,43b
Mo (g. ha⁻¹)						
0	0,520a	10,97a	12,13a	2,26a	1,64a	72,99a
60	0,524a	11,08a	12,44a	2,25a	1,65a	72,60a
Média	0,522	11,03	12,28	2,26	1,65	72,79
CV(%)	5,30	8,04	7,89	0,83	2,30	2,02
Média Bianual	0,533	11,14	12,6	2,30	1,62	72,32

CV(%) = Coeficiente de variação; Médias seguidas por letras minúsculas diferentes indica diferença entre linhas (p<0,05).

Tabela 6 - Trigo cultivar QUARTZO: Atividade de água e composição química em resposta ao nitrogênio (N) e molibdênio (Mo) em cobertura, safras 2013 e 2014.

N (kg. ha ⁻¹)	a _w	Composição química (g%)				
		Umidade	Proteína	Lipídeo	Cinza	Carboidrato Total
Safra 2013						
0	0,548a	10,78a	9,66c	2,29a	1,42a	75,86a
30	0,556a	10,98a	10,47c	2,30a	1,43a	74,83a
60	0,559a	11,20a	12,20b	2,30a	1,40a	72,90b
90	0,546a	10,98a	13,07a	2,31a	1,43a	72,22b
Mo (g. ha⁻¹)						
0	0,551a	11,04a	11,03b	2,30a	1,43a	74,19a
60	0,553a	10,92a	11,66a	2,30a	1,40a	73,70a
Média	0,552	10,98	11,35	2,30	1,42	73,95
CV(%)	2,33	3,32	4,58	0,90	5,68	0,95
Safra 2014						
0	0,555a	10,87a	11,16b	2,25a	1,51a	74,23a
30	0,554a	10,92a	11,99b	2,26a	1,51a	73,33ab
60	0,553a	10,83a	13,76a	2,25a	1,57a	71,59bc
90	0,537a	11,02a	14,53a	2,25a	1,64a	70,55c
Mo (g. ha⁻¹)						
0	0,551a	10,96a	12,67a	2,26a	1,55a	72,57a
60	0,549a	10,85a	13,05a	2,25a	1,56a	72,28a
Média	0,550	10,91	12,86	2,26	1,56	72,42
CV(%)	4,28	4,75	7,83	0,89	13,31	1,63
Média Bianual	0,551	10,94	12,10	2,28	1,49	73,18

CV(%) = Coeficiente de variação; Médias seguidas por letras minúsculas diferentes indica diferença entre linhas (p<0,05).

Tabela 7 - Modelos preditivos e respectivos coeficientes de determinação (R^2) e erro padrão de calibração (SEC).

Variável	Modelo	R^2	SEC
Proteínas (%)	*PLS	0,76	0,79
Carboidratos (%)	**PCR	0,65	1,02
Umidade (%)	**PCR	0,04	0,54
Lipídeos (%)	**PCR	0,63	0,02
Cinzas (%)	**PCR	0,52	0,08

*PLS: Regressão dos mínimos quadrados parciais; **PCR: Regressão dos componentes principais.

Tabela 8 - Principais variáveis selecionadas para análise de agrupamento com relação à maior variância entre os valores de refletância difusa dos espectros NIR em trigo (farinha integral).

Região espectral selecionada (nm)	NV	λ (nm)	Sobretom/Estiramento	
1100 - 1250	75	1220	2º C-H	Celulose
		1380	O-H	Ar-OH
1376 - 1538	81	1415	1º O-H	Água
		1456	N-C	Proteínas
1680 - 1790	55	1790	1º C-H	Celulose
1880 - 1930	25	1855	1º O-H	Ácidos graxos
1950 - 1980	15	1920	2º O-H	Água
1990 - 2050	30	2000	2º O-H	Celulose
2100-2200	50	2180	1º C-C	Celulose
2400 – 2498b	49	2414	3º C-H	Celulose
		2470	C-H	Voláteis

NV: número de variáveis; λ : comprimento de onda; Resolução do espectrômetro NIR: 2,0 nm.

Tabela 9 – Padronização de ic-ELISA: recuperação de DON em grão de trigo integral.

Método	DON ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)		Recuperação (%)	DPR (%)	Recuperação média (%)
	Adicionado	Recuperação			
ic-ELISA	500	506,06 \pm 16,16	101	3,19	97 \pm 0,08
	1000	929,88 \pm 104,56	93	11,24	
	1500	1428,52 \pm 147,65	95	10,34	

*Os dados apresentados são a média de seis determinações (contaminação artificial em duplicata, análise em triplicata); Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão (DP); Para o cálculo foi subtraído o valor do branco (sem adição de DON); DPR = Desvio Padrão Relativo.

Tabela 10 - Trigo cultivar CD150: contaminação por DON, safras 2013 e 2014.

Ano	Amostra (n)				DON ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	
	Total	<LD	>LD e <LQ	>LQ	Média	Máximo
2013	24	21	3	---	---	---
2014	24	10	8	6	520,29	578,84

n = número de amostras; LD = limite de detecção, 254,01 $\mu\text{g.kg}^{-1}$; LQ = limite de quantificação, 422,89 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

Tabela 11 - Trigo cultivar QUARTZO: contaminação por DON, safras 2013 e 2014.

Ano	Amostra (n)				DON ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	
	Total	<LD	>LD e <LQ	>LQ	Média	Máximo
2013	24	24	---	---	---	---
2014	24	12	6	6	389,65	413,73

n = número de amostras; LD = limite de detecção, 239,62 $\mu\text{g.kg}^{-1}$; LQ = limite de quantificação, 365,8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

Tabela 12 – Análise de DON por ic-ELISA em trigo cultivar CD150 em resposta à doses de nitrogênio em cobertura com e sem Molibdênio.

N (kg.ha ⁻¹)	Amostra (n)				DON (µg.kg ⁻¹)	
	Total	<LD	>LD e <LQ	>LQ	Média	Máximo
0	6	4	2	0	---	---
30	6	5	1	0	---	---
60	6	4	2	0	---	---
90	6	2	1	3	524,33±9%	578,84
N (kg.ha⁻¹) + Mo (60 g.ha⁻¹)						
0 + Mo	6	3	3	0	---	---
30 + Mo	6	5	1	0	---	---
60 + Mo	6	5	1	0	---	---
90 + Mo	6	2	1	3	516,24±6%	554,28
Total	48	30	12	6	520,29	578,84

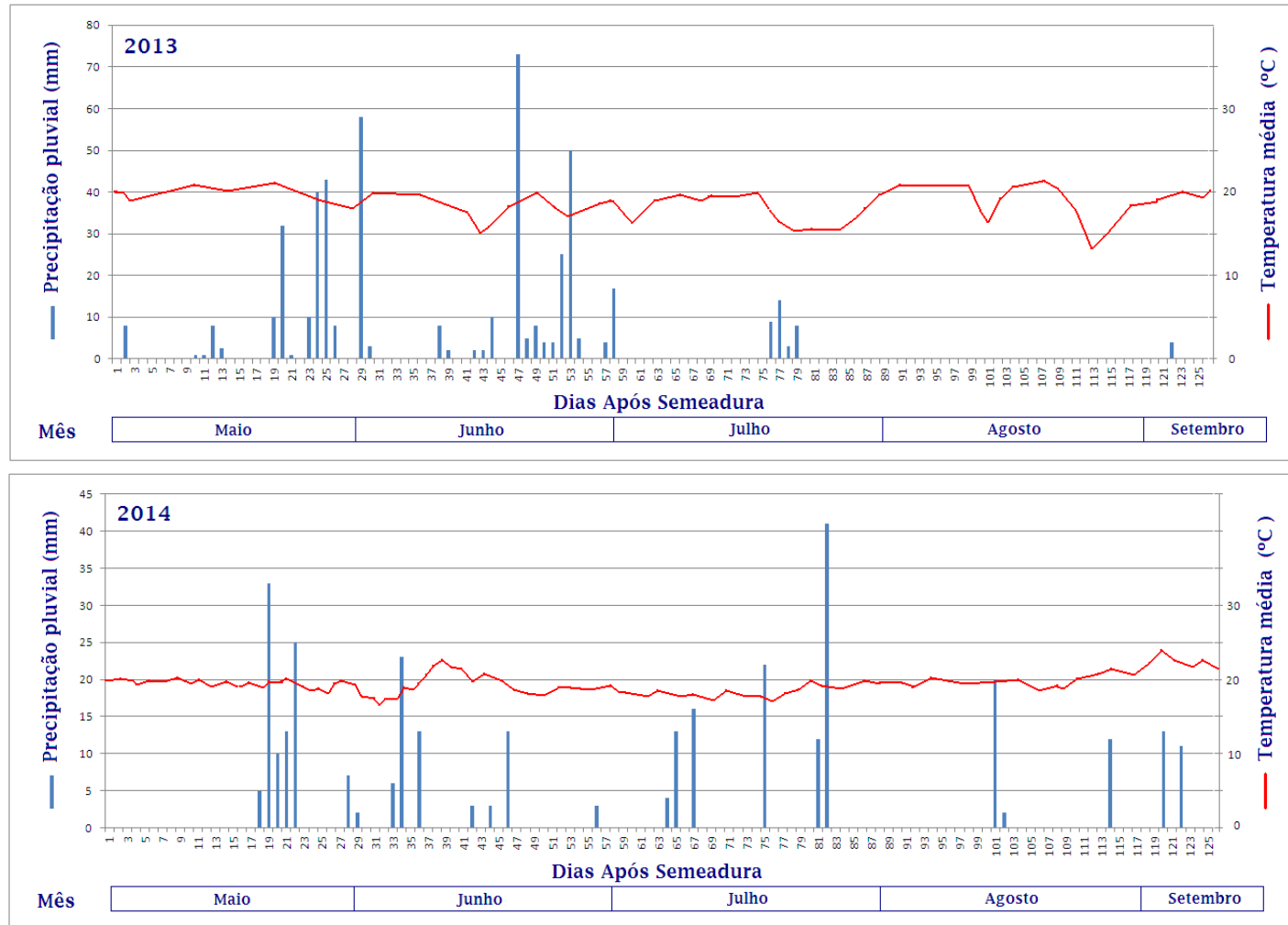
*Média ±CV%; DON = Desoxinivalenol; n = número de amostras; LD = limite de detecção, 254,01 µg.kg⁻¹; LQ = limite de quantificação, 422,89 µg.kg⁻¹.

Tabela 13 - Análise de DON por ic-ELISA em trigo cultivar QUARTZO em resposta à doses de nitrogênio em cobertura com e sem-Molibdênio.

N (kg.ha ⁻¹)	Amostra (n)				DON (µg.kg ⁻¹)	
	Total	<LD	>LD e <LQ	>LQ	Média	Máximo
0	6	6	0	0	---	---
30	6	3	3	0	---	---
60	6	4	0	2	374,36±2%	379,42
90	6	3	1	2	395,11±7%	413,73
N (kg.ha⁻¹) + Mo (60 g.ha⁻¹)						
0 + Mo	6	5	1	0	---	---
30 + Mo	6	6	0	0	---	---
60 + Mo	6	6	0	0	---	---
90 + Mo	6	3	1	2	399,48±4%	412,08
Total	48	36	6	6	389,65	413,73

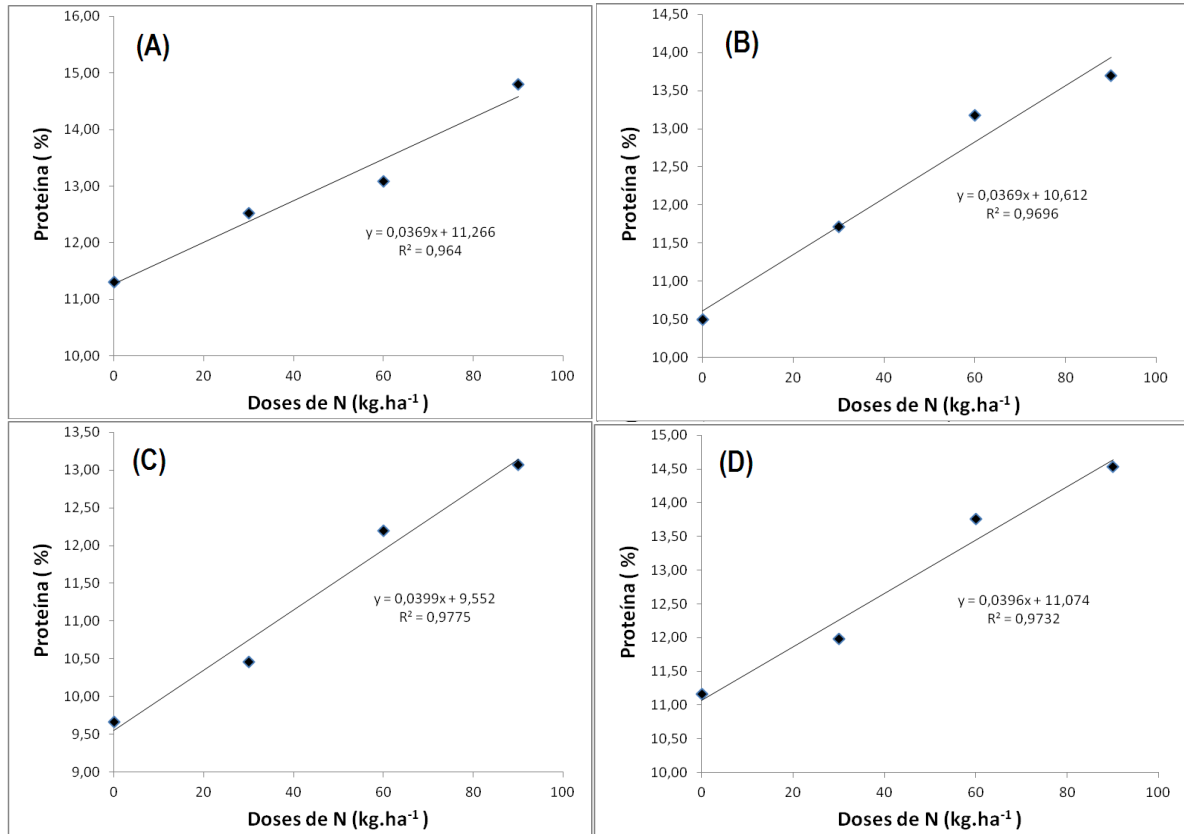
Média ±CV%; DON = Desoxinivalenol; n = número de amostras; LD = limite de detecção, 239,62 µg.kg⁻¹; LQ = limite de quantificação, 365,80 µg.kg⁻¹.

Figura 4 – Condição climática (temperatura média e precipitação pluvial) durante o ciclo de 126 dias (Maio a Setembro no ano 2013 e 2014) região de Londrina-PR.



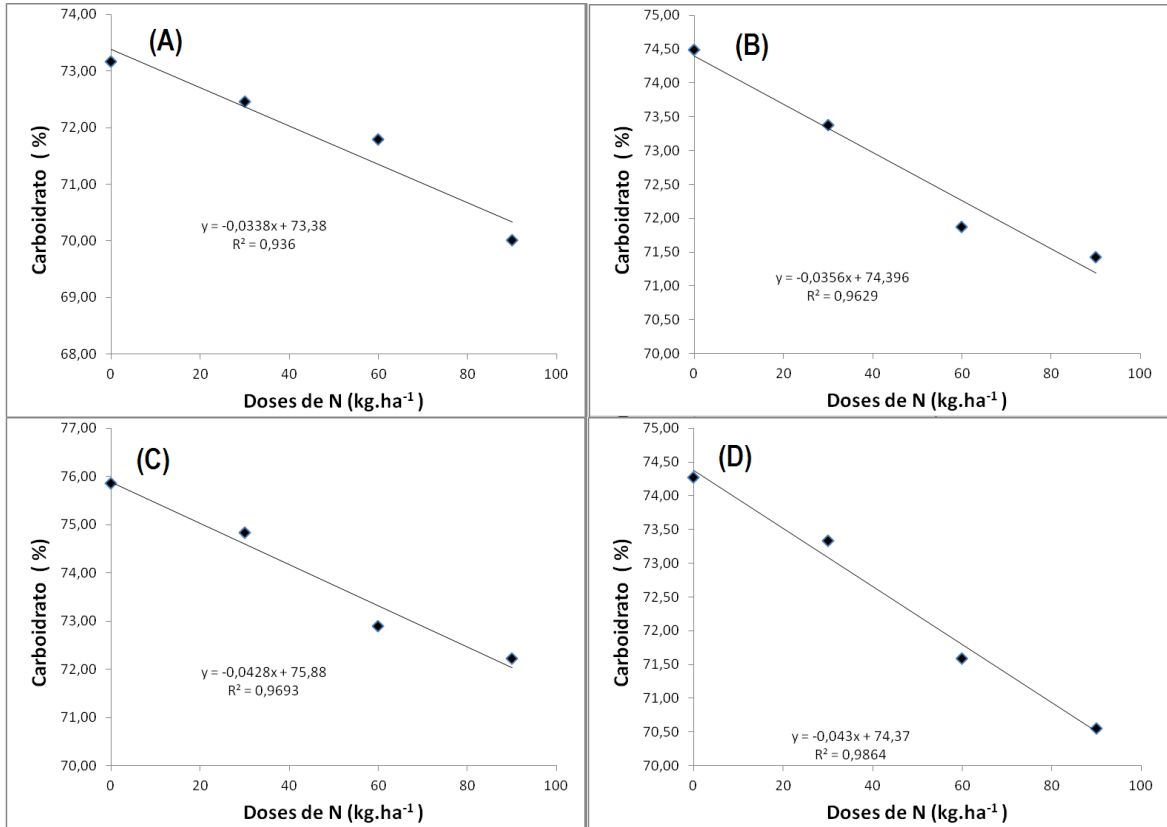
Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (2016). Adaptado pelo autor (2017)

Figura 5 – Teor de proteína em trigo cultivar CD150 e QUARTZO em resposta à doses de nitrogênio em cobertura, Londrina-PR.



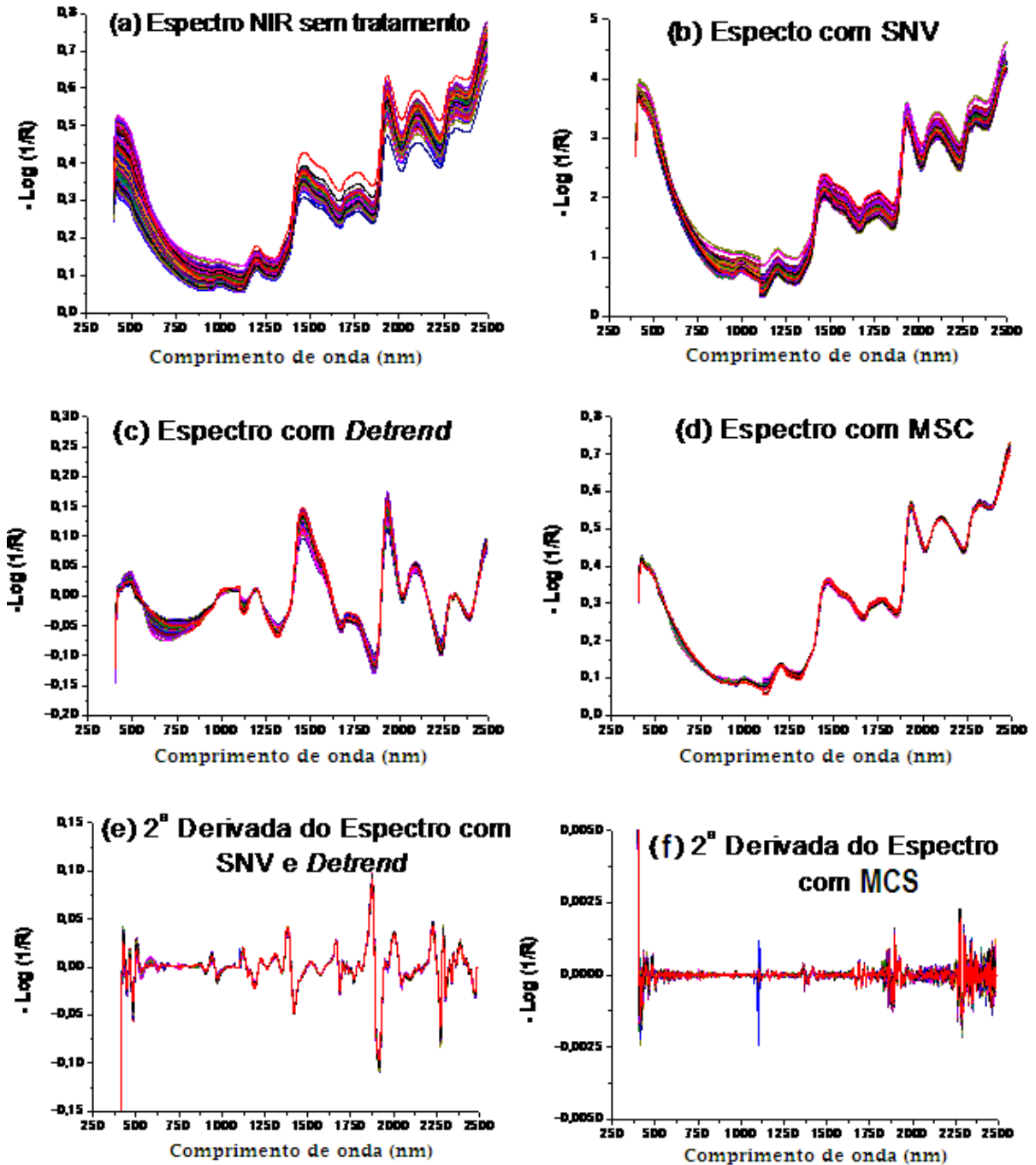
Cultivar CD150, safra 2013 (A); safra 2014 (B). Cultivar QUARTZO, safra 2013 (C); safra 2014 (D).

Figura 6 – Teor de carboidrato em trigo cultivar CD150 e QUARTZO em resposta à doses de nitrogênio em cobertura, Londrina-PR.



Cultivar CD150, safra 2013 (A); safra 2014 (B). Cultivar QUARTZO, safra 2013 (C); safra 2014 (D).

Figura 7 – Análise por espectrometria NIR: Espectro do conjunto de calibração em farinha integral obtida dos grãos de trigo sob tratamento de adubação N-Mo em cobertura.



- (a) sem nenhum tratamento espectral;
- (b) com SNV;
- (c) *Detrend* (d) MSC;
- (e) 2ª derivada com *smooth* (alisamento espectral), SNV e *Detrend*;
- (f) 2ª derivada com *smooth* e MSC.

Número de amostras:96.

Figura 8 - Validação dos modelos de predição com coeficiente de determinação de validação (R^2) e erro padrão de predição (SEP) para (a) proteína (1376-1538 nm), (b) carboidratos (1990 - 2050 nm), (c) lipídeos (1880 – 1930 nm) e (d) cinzas (1990 - 2050 nm) .

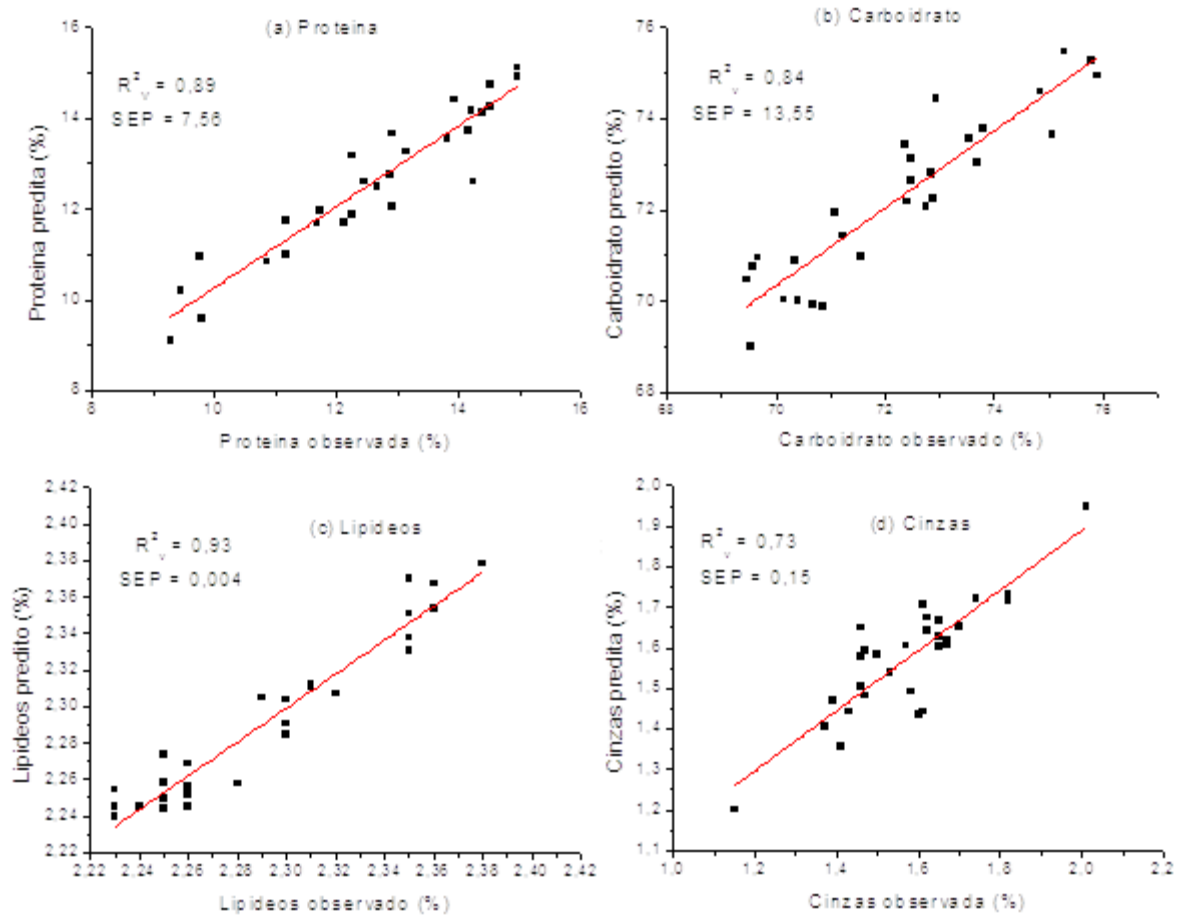
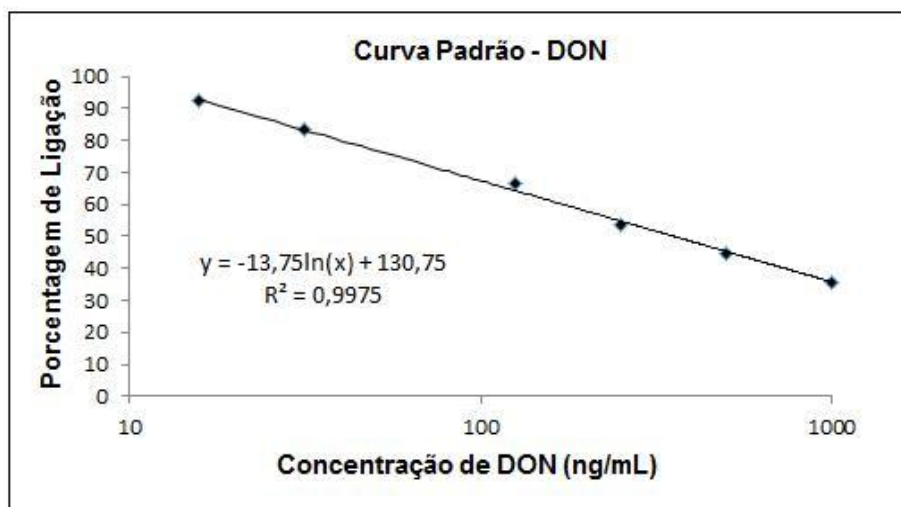


Figura 9 – Comparativo de resultados de NIR e análise bromatológica oficial (AOAC) de 30 amostras validadas.

Amostra	Proteínas (%)					Carboidratos (%)					Lípidios (%)				Cinzas (%)					
	AOAC	NIR	Média	DP	DPR	AOAC	NIR	Média	DP	DPR	AOAC	NIR	Média	DP	DPR	AOAC	NIR	Média	DP	DPR
1	14,39	14,11	14,25	0,2	1,37	70,67	69,92	70,3	0,53	0,76	2,31	2,31	2,31	0	0,02	1,61	1,71	1,66	0,07	4,09
2	11,73	11,96	11,84	0,16	1,38	72,36	73,42	72,89	0,75	1,03	2,35	2,35	2,35	0	0,03	1,58	1,49	1,54	0,06	4,09
3	12,25	13,18	12,72	0,66	5,15	72,75	72,08	72,41	0,47	0,65	2,35	2,34	2,34	0,01	0,36	1,62	1,67	1,65	0,04	2,29
4	11,17	10,98	11,08	0,13	1,19	73,54	73,56	73,55	0,01	0,02	2,38	2,38	2,38	0	0,05	1,65	1,6	1,63	0,03	2,09
5	14,24	12,6	13,42	1,15	8,6	70,14	70,03	70,09	0,08	0,11	2,35	2,37	2,36	0,01	0,6	1,65	1,67	1,66	0,01	0,79
6	12,12	11,7	11,91	0,3	2,48	72,48	73,12	72,8	0,45	0,62	2,36	2,35	2,36	0	0,19	1,46	1,58	1,52	0,08	5,48
7	12,9	13,66	13,28	0,54	4,07	71,56	70,98	71,27	0,41	0,57	2,36	2,37	2,36	0,01	0,22	1,53	1,54	1,53	0,01	0,35
8	15,7	17,32	16,51	1,15	6,94	69,84	71,28	70,56	1,02	1,44	2,36	2,24	2,3	0,08	3,69	1,54	1,61	1,58	0,05	3,14
9	9,29	9,12	9,2	0,13	1,37	75,78	75,27	75,52	0,36	0,47	2,23	2,24	2,23	0,01	0,31	1,57	1,6	1,59	0,02	1,55
10	14,53	14,51	14,52	0,01	0,09	69,71	70,25	69,98	0,38	0,55	2,26	2,25	2,26	0,01	0,31	1,61	1,68	1,65	0,05	3,01
11	14,52	14,25	14,39	0,19	1,33	69,66	70,96	70,31	0,92	1,31	2,26	2,26	2,26	0	0,15	1,7	1,65	1,68	0,03	2,04
12	11,68	11,68	11,68	0	0,04	72,84	72,82	72,83	0,01	0,01	2,24	2,24	2,24	0	0,15	1,62	1,64	1,63	0,02	1
13	14,15	13,73	13,94	0,3	2,15	69,45	70,47	69,96	0,73	1,04	2,26	2,26	2,26	0	0,13	1,67	1,62	1,64	0,04	2,15
14	9,77	10,95	10,36	0,84	8,06	75,06	73,66	74,36	0,99	1,33	2,25	2,27	2,26	0,02	0,74	1,67	1,61	1,64	0,05	2,78
15	12,75	13,16	12,95	0,29	2,24	73,42	72,14	72,78	0,91	1,24	2,23	2,25	2,24	0,01	0,63	1,65	1,65	1,65	0	0
16	12,25	11,88	12,06	0,26	2,15	72,86	72,77	72,82	0,06	0,09	2,26	2,25	2,25	0,01	0,46	1,65	1,63	1,64	0,01	0,9
17	9,45	10,2	9,83	0,53	5,39	75,89	74,95	75,42	0,66	0,88	2,3	2,28	2,29	0,01	0,49	1,47	1,48	1,48	0,01	0,57
18	13,93	14,41	14,17	0,34	2,4	71,23	71,43	71,33	0,14	0,2	2,31	2,31	2,31	0	0,08	1,46	1,65	1,56	0,13	8,64
19	11,18	11,76	11,47	0,41	3,56	73,69	73,06	73,37	0,45	0,61	2,32	2,31	2,31	0,01	0,4	1,46	1,5	1,48	0,03	2,12
20	12,66	12,51	12,58	0,11	0,85	72,4	72,18	72,29	0,16	0,22	2,29	2,3	2,3	0,01	0,46	1,39	1,47	1,43	0,06	3,91
21	13,14	13,27	13,2	0,09	0,67	71,08	71,94	71,51	0,61	0,85	2,3	2,29	2,3	0,01	0,29	1,47	1,59	1,53	0,09	5,6
22	12,46	12,6	12,53	0,1	0,81	72,93	74,44	73,69	1,07	1,45	2,3	2,3	2,3	0	0,11	1,15	1,2	1,18	0,04	3,03
23	9,8	9,6	9,7	0,14	1,49	75,29	75,48	75,38	0,14	0,18	2,26	2,25	2,26	0,01	0,27	1,6	1,44	1,52	0,12	7,64
24	11,18	11,02	11,1	0,11	1,01	74,85	74,59	74,72	0,18	0,24	2,23	2,25	2,24	0,02	0,76	1,43	1,44	1,44	0,01	0,59
25	14,96	15,11	15,04	0,1	0,69	69,54	68,99	69,26	0,39	0,56	2,26	2,27	2,26	0,01	0,27	1,82	1,71	1,77	0,07	4,21
26	13,81	13,57	13,69	0,17	1,26	70,33	70,89	70,61	0,39	0,56	2,25	2,24	2,25	0	0,21	2,01	1,95	1,98	0,04	2,15
27	12,91	12,05	12,48	0,61	4,92	72,47	72,64	72,55	0,12	0,17	2,25	2,25	2,25	0	0,01	1,5	1,58	1,54	0,06	3,76
28	10,86	10,85	10,86	0,01	0,1	73,79	73,8	73,79	0,01	0,01	2,25	2,24	2,25	0	0,18	1,41	1,36	1,38	0,04	2,78
29	12,87	12,76	12,82	0,08	0,64	72,89	72,24	72,56	0,45	0,63	2,28	2,26	2,27	0,02	0,69	1,37	1,41	1,39	0,03	1,8
30	14,52	14,75	14,63	0,17	1,14	70,4	70,01	70,2	0,28	0,4	2,25	2,26	2,25	0,01	0,26	1,74	1,72	1,73	0,01	0,79
Nº de amostras com DPR>5,0	5					0					0				4					

AOAC = Determinação por método convencional; NIR = Determinação por NIR; DP = Desvio Padrão; DPR = Desvio Padrão Relativo; Valores marcados em vermelho indicam amostras com DPR>5,0.

Figura 10 - Curva padrão para análise de DON por ic-ELISA.



REFERÊNCIAS

- ABDEL RAHEEM, A.; BIRD, L. S. Effect of nutrition on resistance and susceptibility of cotton to *Verticillium albo-atrum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 57, n. 5, p. 457, maio 1967.
- ABITRIGO (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO TRIGO). **História do trigo**: o papel do trigo na evolução da humanidade. São Paulo: Abitrigo, 2008. Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br/historia_do_trigo2a.asp>. Acesso em: 29 nov. 2016.
- ALEXOPOULOS, C. J. **Introductory mycology**. 2 ed. New York: Wiley & Sons, 1962. 613 p.
- AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis**. 16. ed. Washington: AOAC, 1995. v. 2.
- ASCOLI, A. A.; SORATTO, R. P.; MARUYAMA, W. I. Aplicação foliar de molibdênio, produtividade e qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro irrigado. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 2, p. 377-384, 2008.
- BALIGAR, V. C.; DUNCAN, R. R. **Crops as enhancers of nutrient use**. New York: Academic Press, 1990. 574 p.
- BANDO, E., GONÇALES, L., TAMURA, N. K., MACHINSKI, M. Biomarcadores para avaliação da exposição humana às micotoxinas. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 3, p. 175-180, jun. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v43n3/a06v43n3.pdf/>>. Acesso em: 05 jan. 2016.
- BELDEROK, B. Developments in bread-making processes. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 55, n. 1, p.15-20, mar. 2000. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1023/A%3A1008199314267>>. Acesso em: 19 abr. 2016.
- BEYER, M.; KLIX, M. B.; KLINK, H.; VERREET, J. A. Quantifying the effects of previous crop, tillage, cultivar and triazole fungicides on the deoxynivalenol content of wheat grain: a review. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Alemanha, v. 113, n. 6, p. 241-246, dez. 2006. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF03356188>>. Acesso em: 25 fev. 2016.
- BIOTRIGO. **Quartzo**: 2008. Passo Fundo: Biotrigo Genética, 2013. Disponível em: <<http://www.biotrigo.com.br/cultivares/internaCultivar.php?empresa=2&id=23>>. Acesso em: 30 ago. 2016.
- BONA, F. D MORI, C.; WIETHÖLTER, S. Manejo nutricional da cultura do trigo. **Informações agronômicas**, Piracicaba, n. 154, jun. 2016. Disponível em: <[http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/47520FE3CAA3AEF183257FE70048CC16/\\$FILE/Page1-16-154.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/47520FE3CAA3AEF183257FE70048CC16/$FILE/Page1-16-154.pdf)>. Acesso em: 23 nov. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 9, de 24 de março de 2000. Aprova os métodos analíticos de referência para análise de micotoxinas em produtos, subprodutos e derivados de origem vegetal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 mar. 2000. Seção 1, p. 35. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=7336>>. Acesso em: 21 jul. 2015.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SARC n. 7, de 15 de agosto de 2001. Regulamento técnico de identidade e de qualidade do trigo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 21 ago. 2001. Seção 1, p. 33-35, Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1367>>. Acesso em: 21 jul. 2015.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n. 7, de 18 de fevereiro de 2011. Regulamento técnico sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 09 mar. 2011. Seção 1, p. 72. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2968262/RDC_07_2011_COMP.pdf/afe3f054-bc99-4e27-85c4-780b92e2b966>. Acesso em: 21 jul. 2015.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 38, de 30 de novembro de 2010. Regulamento técnico do trigo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, n. 29, p. 2, 1 dez. 2010.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria DETEN n. 354, de 18 de julho de 1996. Aprova a norma técnica referente a farinha de trigo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, de 22 de jul. de 1996. Seção 1, pt. 1. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_344_2002_COMP.pdf/b4d87885-dcb9-4fe3-870d-db57921cf73f>. Acesso em: 21 jul. 2015.

BRIYONES-REYES, D.; GOMÉZ-MARTINEZ, L.; CUERVA-ROLÓN, R. Zearalenone contamination in corn for human consumption in the state of Tlaxcala, México. **Food Chemistry**, Londres, v.100, n. 2, p.693-698, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.027>>. Acesso em: 28 fev. 2016.

BULLERMAN, L. B.; SCHOEREDER, L. L.; PARK, K. Y. Formation and control of mycotoxins in food. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 47, n. 8, p. 637-646, 1984. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X-47.8.637>>. Acesso em: 17 nov. 2016.

BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W.; **Handbook of Near-Infrared Analysis**. 3 ed. Marcel Dekker, Inc., New York, 2007.

BURNS, D. A., CIURCZAK, E. W. **Handbook of Near-Infrared Analysis**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2008.

CALONEGO, J. C.; RAMOS JUNIOR, E. U.; BARBOSA, R. D.; LEITE, G. H. P.; GRASSI FILHO, H. Adubação nitrogenada em cobertura no feijoeiro com suplementação de molibdênio via foliar. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 3, p. 334-340, 2010. Disponível em:

<<http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/471>>. Acesso em: 26 jun. 2016.

CALORI-DOMINGUES, M. A.; ALMEIDA, R. R.; TOMIWAKA, M. M.; GALLO, C. R.; GLORIA, E. M.; DIAS, C. T. S.; Ocorrência de desoxinivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.1, p.181-185, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000100032>>. Acesso em: 30 out. 2016.

CANTARELLA, H.; NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F., ALVAREZ, V. H., BARROS, N. F., FONTES, R. L. F., CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do Solo**, 2. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375- 470.

CASA, T. R.; REIS, M. E.; BLUM, C. M. M.; BOGO, A.; SCHEER, O.; ZANATA, T. Danos causados pela infecção de *Giberella zeae* em trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 289-293, maio/jun. 2004. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582004000300008>>. Acesso em: 13 mar. 2016.

CAVALIERE, C.; D'ASCENZO, G.; FOGLIA, P.; PASTORINI, E.; SAMPERI, R.; LAGANÀ, A. Determination of type B trichothecenes and macrocyclic lactone mycotoxins in field contaminated maize. **Food Chemistry**, Londres, v. 92, n. 3, p. 559-568, set. 2005. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.008>>. Acesso em: 17 maio 2016.

CHO, S. H.; LEE, C. H.; JANG, M. R.; SON, Y. W.; LEE, S. M.; CHOI, I. S.; KIM, S. H.; KIM, D. B. Aflatoxins contamination in spices and processed spice products commercialized in Korea. **Food Chemistry**, Londres, v. 107, n. 3, p. 1283-1288, abr. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.049>>. Acesso em: 13 dez. 2015.

CLEAR, R. M.; PATRICK, S. K. *Fusarium* species isolated from wheat samples containing tombstones (scab) kernels from Ontario, Manitoba and Saskatchewan. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 70, n. 4, p. 1057-1069, jun. 1990. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.4141/cjps90-128>>. Acesso em: 09 ago. 2016.

COELHO, M. A. O.; SEDIYAMA, T.; SOUZA, M. A.; RIBEIRO, A. C.; SEDIYAMA, C. S. Composição mineral e exportação de nutrientes pelos grãos do trigo irrigado e submetido a doses crescentes e parceladas de adubo nitrogenado. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 48, n. 275, p.81-84. 2001. Disponível em:

<<http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/viewFile/2647/2079>>. Acesso em: 03 jul. 2016.

COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 7., 2014, Londrina, PR. **Informações técnicas para trigo e triticale**: safra 2014. Londrina,

PR: Fundação Meridional, 2014. 239 p. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/trigo/Livro%20Trigo%20e%20Triticale%20-%2021-05-14.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2016.

COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2017, Londrina, PR. **Informações técnicas para trigo e triticale**: safra 2016. Londrina, 2016. 41 p. Disponível em: <<http://www.iapar.br/arquivos/File/banner%20pequeno/TrigoeTriticale2017.pdf>>. Acesso em: 28 abril. 2017.

COMUNIDADE EUROPÉIA. Commission Regulation (EC) n. 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L 70, p. 12-34, 2006. Disponível em: <<https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/usefulinf/files/es401-2006.pdf>>. Acesso em: 18 set. 2016.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). Safra 2015/16: oitavo levantamento de grãos. **Acompanhamento de Safra brasileira**, Brasília, v. 3, n. 8, p. 01-178, maio 2016. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_05_10_09_03_26_boletim_graos_maio_2016.pdf>. Acesso em: 6 fev. 2016.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). Safra 2016/17: oitavo levantamento de grãos. **Acompanhamento de Safra brasileira**, Brasília, v. 4, n. 5, p. 01-166, fevereiro 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_02_16_11_51_51_boletim_graos_fevereiro_2017.pdf>. Acesso em: 6 fev. 2017.

CONKOVÁ, E.; LACIAKOVÁ, A.; KOVÁČ, G.; SEIDEL, H. Fusarial toxins and their role in animal diseases. **The Veterinary Journal**, Londres, v. 165, n. 3, p. 214-220, maio 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1090-0233\(02\)00127-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1090-0233(02)00127-2)>. Acesso em: 23 mar. 2015.

CONZEN, J. P. **Multivariate Calibration. A Practical Guide for the Method Development in the Analytical Chemistry**. 2. ed. Ettlingen: Bruker Optick GmbH, 2006.

COODETEC (COOPERATIVA CENTRAL DE PESQUISA AGRÍCOLA). **Trigo**: cd 150. Cascavel: Coodetec, 2015. Disponível em: <http://www.coodetec.com.br/php/detalhes_cultivar.php?id=63>. Acesso em: 11 jun. 2015.

CORNELL, H. J.; HOVELING, A.W. **Wheat**: chemistry and utilization. Lancaster: Technomic Publishing, 1998. 426 p.

CQFS-RS/SC (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO RS/SC). **Manual de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2004. 400 p. Disponível em: <http://www.sbcs-nrs.org.br/docs/manual_de_adubacao_2004_versao_internet.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2016.

CREPPY, E. E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. **Toxicology Letters**, Amsterdã, v. 127, n.1-3, p. 19-28, fev. 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378427401004799>>. Acesso em: 13 maio 2016.

CUNHA, G. R da. **Oficina sobre trigo no Brasil**: bases para a construção de uma nova triticultura brasileira. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/107847/1/2009-cunha-oficina-de-trigo-no-brasil.pdf>>. Acesso em: 24 ago. 2016.

DARDIS, J. V.; WALSH, E. J. Control of *Fusarium* head blight in wheat under growing conditions: current situation and future prospects. **Biology and Enviroments**: Proceedings of the Royal Irish Academy, Dublin, v. 102B, n. 2, p. 93-103, nov. 2002. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/20500152>>. Acesso em: 30 out. 2016.

DE MORI, C.; HARGER, N.; FOLONI, J. S. S.; EICHELBERGER, L.; BASSOI, M. C.; DOSSA, A. A.; OLIVEIRA, A. B. de; BODNAR, A.; FAE, G. S.; TAVARES, L. C. V.; CESA, P. **Uso de tecnologias em lavouras de trigo tecnicamente assistidas no Paraná**: safra 2012. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2014. 31 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/103757/1/2014-documentos-online148.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2016.

DE MORI, C.; HARGER, N.; PRANDO, A. M.; SILVA, S. R.; TAVARES, L. C. V.; BASSOI, C. M.; FOLONI, J. S. S.; OLIVEIRA, A. B.; LIMA, D.; SILVA FILHO, P. M. da. **Uso de tecnologias em lavouras de trigo tecnicamente assistidas no Paraná**: safra 2014. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2016. 42 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/147667/1/ID43753-2016DO160.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2016.

DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PIEROBOM, C. R.; BERGS TROM, G. C. Giberela do trigo: aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 587-606, nov./dez. 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/fb/v29n6/a01v29n6.pdf>>. Acesso em: 23 mar. 2016.

DESJARDINS, A. E.; MANANDHAR, G.; PLATTNER, R. D.; MARAGOS, C. M.; SHRESTHA, K.; McCORMICK, S. P. Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in nepalese maize and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 4, p.1377-1383, mar. 2000. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf991022b>>. Acesso em: 25 out. 2016.

DESJARDINS, A. E. *Gibberella* from A (*venaceae*) to Z (*ae*). **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 41, n. 2, p. 177-198, set. 2003. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.phyto.41.011703.115501>>. Acesso em: 25 out. 2016.

DIAZ, C.; PURDY, S.; CHRIST, A.; MOROT-GAUDRY, J-F.; WINGLER, A.; MASCLAUX-DAUBRESSE, C. Characterization of Markers to Determine the Extent and Variability of Leaf Senescence in Arabidopsis. A Metabolic Profiling Approach. **Plant Physiology**, Bethesda, Md., v. 138, n. 2, p. 898-908, jun. 2005.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15923326>>. Acesso em: 12 dez. 2016.

DOOHAN, M.F.; BRENNAN, J.; COOKE, J. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 109, n. 7, p. 755-768, set. 2003. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1023/A%3A1026090626994>>. Acesso em: 11 nov. 2016.

DOS SANTOS, J. C.; TAKABAYASHI, C. R.; ONO, E. Y. S.; ITANO, E. N.; MALLMANN, C. A.; KAWAMURA, O.; HIROOKA, E. Y. Immunoassay based on monoclonal antibodies versus LC-MS: deoxynivalenol in wheat and flour in Southern Brazil. **Food Additives and Contaminants**, Abingdon, v. 28, n. 8, p. 1083-1090, maio 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2011.576442>>. Acesso em: 05 out. 2015.

EDWARDS, S. G. Influence of agricultural practices on *Fusarium* infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. **Toxicology Letters**, Amsterdã, v. 153, n.1, p. 29-35, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.04.022>>. Acesso em: 29 out. 2015.

EL-KHAYAT, G. H.; SAMAN, J.; MANTHEY, F. A.; FULLER, M. P.; BRENNAN, C. S. Durum wheat quality I: some physical and chemical characteristics of Syrian durum wheat genotypes. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.41, n.s. 2, p. 22-29, dez. 2006. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.2006.01245.x>>. Acesso em: 27 maio 2016.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). **Efeito do frio em trigo**. Passo fundo: Embrapa trigo, 2000. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 57). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co57.htm>. Acesso em: 03 jan. 2017.

_____. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

ERNANI, P. R. **Disponibilidade de nitrogênio e adubação nitrogenada pra a macieira**. Lages: Graphel, 2003. 76 p.

EVANGELISTA, J.R.E.; OLIVEIRA, J.A.; BOTELHO, F.J.E.; CARVALHO, B.O.; VILELA, F. DE L.; OLIVEIRA, G.E. Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de feijão oriundas de sementes tratadas com enraizante e nutrição mineral das plantas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, ed. Especial, p.1664-1668, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v34nspe/v34nspea13.pdf>>. Acesso em: 06 ago. 2016.

FERREIRA, A. C. B.; ARAÚJO, G. A. A.; CARDOSO, A. A.; FONTES, P. C. R.; VIEIRA, C. Características agronômicas do feijoeiro em função do molibdênio contido na semente e da sua aplicação via foliar. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 65-72, 2003. Disponível em:

<<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/2438/1633>>. Acesso em: 19 mar. 2016.

FERREIRA, D. F. **SISVAR Sistemas de análises de variância para dados balanceados**: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Lavras: UFLA, 2002. Versão 4.3.

FONTOURA, S.M.V; BAYER, C. **Manejo e Fertilidade de Solos em Plantio Direto**. 2. ed. Guarapuava: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2009. 143 p.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do trigo**. Jaboticabal: Funep, 2008. 256 p.

FREIRE, F., VIEIRA, I., GUEDES, M., MENDES, F. **Micotoxinas**: importância na alimentação e na saúde humana e animal. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 48 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 110). Disponível em: <http://www.cnpq.embrapa.br/cd/jss/acervo/Dc_110.pdf>. Acesso em: 13 dez. 2016.

FREITAS, J. G.; CAMARGO, C. E. O.; PEREIRA FILHO, A. W. P., et al. Eficiência e resposta de genótipos de trigo ao nitrogênio. **Revista Brasileira da Ciência do Solo**, Viçosa, 1995. v. 19, p. 229-234.

FUNDAÇÃO MERIDIONAL DE APOIO À PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Informativo meridional**, Londrina, v. 16, n. 57, 6 p. mar. 2016. Disponível em: <<http://www.fundacaomeridional.com.br/Informativos/57/informativo-57.pdf>>. Acesso em: 14 nov. 2016.

GARCIA, D. M. **Análise de atividade de água em alimentos armazenados no interior de granja de integração avícola**. 2004. 50 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/4401/000411394.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 21 jun. 2016.

GEORGET, D. M. R.; UNDERWOOD-TOSCANO, C.; POWERS, S. J.; SHEWRY, P. R.; GOESAERT, H.; BRIJS, K.; VERAVERBEKE, W. S.; COURTIN, C. M.; GEBRUERS, K.; DELCOUR, J. A. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 16, n. 1, p. 12-30, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.011>>. Acesso em: 17 maio 2016.

GERMANI, R.; BENASSI, V. T.; CARVALHO, J. L. V.; TORREZAN, B.; CAMPOS, J. E.; MAZZARI, M. R. **Curso para laboratoristas da indústria moageira do trigo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1993.

GILBERT, J.; TEKAUZ, A. Review: recent developments in research on *Fusarium* head blight of wheat Canada. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 22, n. 1, p. 1-8, jan. 2000. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/07060660009501155>>. Acesso em: 10 mar. 2016.

GINKEL, M. van; VAN DER SCHAAR; W. ZHUPING, Y.; RAJARAM, S. Inheritance of resistance to scab in two wheat cultivars from Brazil and China. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 80, n. 8, p. 863-867, ago. 1996. Disponível em: <http://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1996Articles/PlantDisease80n08_863.PDF>. Acesso em: 29 jun. 2016.

GRANT, C. Adubação para qualidade nutricional dos alimentos. **Informações agrônomicas**, Piracicaba, n. 145, mar. 2014. Disponível em: <[http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/5FFABE3256066CCF83257CB30072113C/\\$FILE/Page14-17-145.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/5FFABE3256066CCF83257CB30072113C/$FILE/Page14-17-145.pdf)>. Acesso em: 28 nov. 2016.

GREFFEUILLE, V.; ABECASSIS, J.; BAROUH, H.; VILLENEUVE, P.; MABILLE, F.; BAR LHELGOUAC, C.; LULLIEN-PELLERIN, V. Analysis of the milling reduction of bread wheat farina: physical and biochemical characterization. **Journal of Cereal Science**, Londres, v. 45, n. 1, p. 97-105, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2006.07.003>>. Acesso em: 20 nov. 2016.

HADDAD, Y.; BENET, J. C.; DELENNE, J. Y.; MERMET, A.; ABECASSIS, J. Rheological behaviour of wheat endosperm: proposal for classification based on the rheological characteristics of endosperm test samples. **Journal of Cereal Science**, Londres, v. 34, n. 1, p. 105-113, 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1006/jcrs.2000.0373>>. Acesso em: 03 set. 2016.

HANLIN, R. T. **Illustrated genera of ascomycetes**. St. Paul: APS Press, 1990. 263 p.

HARGER, N.; PASINATO, A.; CAIERÃO, E.; PIRES, J. L. F.; PIMENTEL, M. B. M.; IGNACZAK, J. C.; MAURINA, A. C.; DE MORI, C.; FERREIRA FILHO, A. Uso de tecnologias em lavouras de trigo no Paraná, período 1994 a 2010. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 5., 2011, Dourados. **Anais...** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. 5 p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/129743/1/ID43121-2011reuniaotrigo-CD-242.pdf>>. Acesso em: 08 ago. 2016.

HARPER, J.E. Nitrogen metabolism. In: BOOTE, K.J. et. al. **Physiology and determination of crop yield**. Washington: American Society of Agronomy, 1994. Cap.11A, p. 285-302.

HIROOKA, E. Y.; ONO, E. Y. S.; TAKABAYASHI, C. R.; ISHIKAWA, A. T. et al. Safety and quality in the agricultural product chain in Brazil. In: EISSA, Ayman Hafiz Amer. **Food production and industry**. Rijeka: InTech, 2015. p. 137-167. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/food-production-and-industry/safety-and-quality-in-the-agricultural-product-chain-in-brazil>>. Acesso em: 20 jan. 2016.

HOMDORK, S.; FEHRMANN, H.; BECK, R. Influence of different storage conditions on the mycotoxin production and quality of *Fusarium*-infected wheat grain. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 148, n. 1, p. 7–15, jan. 2000. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1439-0434.2000.00461.x>>. Acesso em: 12 set. 2016.

IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). **Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

IAPAR (INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ). **Agrometeorologia, dados diários de Londrina**. Londrina: IAPAR, 2017. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1828>>. Acesso em: 03 jan. 2017.

_____. Informações técnicas para a cultura de trigo no Paraná. Londrina, 2000. 152 p. (Circular, 109).

IARC (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER). Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans: Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Stryrene. **International Agency for Research on Cancer**, France, v. 82, p. 171-300, fev. 2002. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/mono82.pdf>>. Acesso em: 04 set. 2016.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS). **Estatísticas da produção agrícola**: setembro 2013. [S.l.: s.n.], 2013. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Fasciculo_Indicadores_IBGE/2013/estProdAgr_201309.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2014.

INMET (INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA). **Chuvas mensais acumuladas para o ano de 2013 e 2014**. Brasília: INMET, 2017. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo/graficos>>. Acesso em: 18 maio 2016.

KAWAMURA, O. Production of monoclonal antibodies against deoxynivalenol and development of a high sensitive ELISA using enzyme amplification. **Technical Bulletin of Faculty of Agriculture, Kagawa University**, Kagawagen, v. 57, p. 27-33, 2005. Disponível em: <<http://ci.nii.ac.jp/naid/110001136939/en>>. Acesso em: 29 out. 2016.

KHAN, K.; SHEWRY, P. R. **Wheat: chemistry and technology**. 4. ed. Saint Paul: AACC, 2009.

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B. Relações entre a adubação nitrogenada e a qualidade de grãos e de sementes em aveia branca. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 02, p. 379-383, mar./abr. 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782004000200007>>. Acesso em: 13 mar. 2016.

KOVAČEVIĆ, V., ŠEPUT, M., ILJKIĆ, D., STOJIĆ, B., & PRIBANIĆ, M. Response of maize and wheat to increasing rates of NPK-fertilization. **Poljoprivreda**, v. 18, n. 2, p. 12-17, dez. 2012. Disponível em: <<http://hrcak.srce.hr/94623>>. Acesso em: 04 jan. 2017.

KRAY, C. H. **A calagem na cultura da soja, milho, trigo e aveia**. [S. l.: s. n.], 2004. Disponível em: <<http://www.calcario-rs.com.br/artigos.asp?id=6>>. Acesso em: 03 jan. 2017.

- KRSKA, R.; SCHUBERT-ULLRICH, P.; MOLINELLI, A.; SULYOK, M.; MACDONALD, S.; CREWS, C. Mycotoxin analysis: An update. **Food Additives and Contaminants**, Abingdon, v. 25, n. 8, p. 152-163, fev. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/02652030701765723>>. Acesso em: 30 mar. 2016.
- LARGE, E. C. Growth stages in cereals. Illustration of the Feekes scale. **Plant Pathology**, Londres, v. 3, n. 4. p. 128-129, abr. 1954. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3059.1954.tb00716.x/>>. Acesso em: 17 maio 2016.
- LIBARDI, V. C. M.; COSTA, M. B. Consumo D'água da Cultura do Trigo (*Triticum aestivum*, L.). **Revista da FZVA**, v. 4, n. 1, 1997.
- LIMA, M. I. P. M. Determinação da resistência de cultivares de trigo á giberela. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, suplemento, p.S119, ago., 2004. Resumo.
- LIMA, S. F.; ANDRADE, M. J. B.; CARVALHO, J. G. Resposta do feijoeiro à adubação foliar de boro, molibdênio e zinco. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 2, p. 462-467, 1999. Disponível em: <<http://www.editora.ufla.br/index.php/component/phocadownload/category/32-volume-23-numero-2?download=430:vol23numero2>>. Acesso em: 07 jan. 2016.
- LORI, G.A.; SISTERNA, M.N.; HAIDUKOWSKI, M.; RIZZO, I. *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol contamination in the durum wheat area of Argentina. **Microbiological Research**, Jena, v. 158, n. 1, p. 29-35, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12608577>>. Acesso em: 11 abr. 2016.
- LUYPAERT, J.; HEUERDING, S.; DE JONG S.; MASSART, D. L. An evaluation of direct orthogonal signal correction and other preprocessing methods for the classification of clinical study lots of a dermatological cream. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdã, v. 30, n. 3, p. 453-466, out. 2002.
- MAHLER, R. L.; KOEHLER, F. E.; Lutcher, L. K. Soils: nitrogen source, timing of application, and placement: effects on winter wheat production. **Agronomy Journal**, Madison, v. 86, p. 637-642, 1994. Disponível em: <<https://dl.sciencesocieties.org/publications/aj/abstracts/86/4/AJ0860040637?access=0&view=pdf>>. Acesso em: 02 nov. 2016.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.
- MALAVOLTA, E.; OLIVEIRA, S.A. de; WADT, P.G.S. Foliar diagnosis: the status of the art. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Org.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. p. 205-242.
- MALMANN, C. A., M., MÜRMAN, L., DILKIN, P., & ALMEIDA, C. A. A. Avaliação da contaminação por desoxinivalenol em trigo utilizado na alimentação humana. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMÁCIA, 1, 2003, São Paulo. **Anais...** São Paulo: 2003.

MALONE, B. Solution fluorometric method for deoxynivalenol in grains. In: TRUCKSESS, M. W.; POHLAND, A. E. **Mycotoxin protocols**. Totowa: Humana Press, 2001. p. 97-113.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. Londres: Academic Press, 1995. 889 p.

MARTIN, R. A.; McLEOD, J. A.; CALDWELL, C. Influences of production inputs on incidence of infection by *Fusarium* species on cereal seed. **Plant Disease**, St. Paul, v. 75, n. 7, p. 784-788, jul. 1991. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10222/38238>>. Acesso em: 12 jun. 2016.

MCKEVITH, B. Nutritional aspects of cereals. *Nutrition Bulletin*, London, v. 29, n. 2, p. 111-142, 2004.

MEHTA, Y. R. **Doenças do trigo e seu controle**. São Paulo: Ceres, 1978. 190 p.

MENGEL K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. 5. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. 849 p.

_____. **Principles of plant nutrition**. 3. ed. Bern: International Potash Institute, 1982. 237-297 p.

MIRANDA, M. Z.; DE MORI, C.; LORINI, I. **Qualidade comercial do trigo brasileiro: safra 2005**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 102 p. (Embrapa Trigo. Documentos, 80). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/821500/1/ID9731LV1452.pdf>>. Acesso em: 09 jul. 2016.

MIRANDA, M. Z. **Efeito do tempo de germinação do trigo e das variáveis de extrusão na qualidade tecnológica e nutricional de farinha integral**. 1998. 216 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000135375>>. Acesso em: 29 mar. 2016.

MOLIN, R. **Avaliação de micotoxinas em grãos de milho nos estádios fenológicos próximos à colheita**. 1999. 68 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

MORALES, R. G. F.; SANTOS, I. D.; TOMAZELI, V. N. Influence of leaf mineral nutrition on wheat diseases. **Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 1, p. 71-76, jan./fev. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2012000100010>>. Acesso em: 14 ago. 2016.

MOSSE, J. Nitrogen-to-protein conversion factor for ten cereals and six legumes or oilseeds. A reappraisal of its definition and determination. Variation according to species and to seed protein content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 38, n. 1, p. 18-24, 1990. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00091a004>>. Acesso em: 30 dez. 2016.

NAES, T., ISAKSSON, T., FEARN, T., DAVIES, T.. **A user-friendly guide to multivariate calibration and classification**. Chichester: NIR Publications, 2002.

NICHOLAS, D.J.D. The functions of trace elements in plants. In: NICHOLAS, D. J. D.; EGAN, A. R. **Trace elements in soil-plant-animal systems**. Londres: Academic Press, 1975. 417 p.

NOUREDDINE, B.; KIM, Y. M.; STRELKOV, S. E. Influence of water activity and temperature on growth and mycotoxin production by isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from wheat. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 131, n. 2/3, p. 251-255, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.001>>. Acesso em: 14 maio 2016.

NURYONO, N.; NOVIANDI, C.T.; BOHM, J.; RAZZAZI-FAZELI, E. A limited survey of zearalenone in Indonesian maize-based food and feed by ELISA and high performance liquid chromatography. **Food Control**, Guildford, v. 16, n. 1, p. 65-71, jan. 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2003.11.009>>. Acesso em: 23 jan. 2016.

OLIVEIRA, A. P.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; SADER, R., ALVES, A. U. Produção e qualidade fisiológica de sementes de coentro em função de doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 1, p. 193-198, abr. 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222006000100027>>. Acesso em: 02 mar. 2016.

OLIVEIRA, S.; MENDONÇA, A. O.; LEMES E. S.; RITTER, R.; AISENBERG, G. R.; MENEGHELLO, G. E. Manejo nutricional com cobalto e molibdênio em trigo: efeito na produtividade e na qualidade fisiológica das sementes. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 8, n. 5, p. 13-17, dez. 2014. Disponível em: <<http://revistatca.pb.gov.br/edicoes/volume-08-2014/volume-8-numero-5-dezembro-2014/tca8503.pdf>>. Acesso em: 01 dez. 2016.

ONO, E. Y. S.; BIAZON, L.; FUJII, S.; ONO, M. A.; HIROOKA, E. Y. Advances in immunochemical methods for mycotoxin/mycotoxigenic fungi detection in the agri-food system. In: **Fungi: multifaceted microbes**. New Delhi: Anamaya Publishers, 2006. p. 275-293.

ONO, E. Y. S.; MENDES, A. M.; MEIRELLES, P. G.; HIROOKA, E. Y.; ONO, M. A. Micotoxinas em alimentos: progressos na imunodeteção. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, n. 32, p. 69-80, 2004.

OSBORNE, B. G.. **Near-infrared spectroscopy in food analysis**: encyclopedia of analytical chemistry. Hoboken: John Wiley & Sons, 2000.

OSÓRIO, E. A. **Trigo no Brasil**. Campinas: Fundação Cargil, 1982. 72 p.

OUBIÑA, A.; BALLESTEROS, B.; CARRASCO, P. BOU; GALVE, R.; GASCON, J.; IGLESIAS, F.; SANVINCENS, N.; MARCO, M. P. Immunoassays for environmental analysis. In: BARCELO, D. **Environmental analysis sample handling and trace analysis of pollutants**: techniques, applications and quality assurance. Amsterdã: Elsevier Science, 2000. p. 287-339.

PALM, C. A.; SANCHEZ, P. A. Nitrogen release from the leaves of some tropical legumes as affected by their lignin and polyphenolic contents. **Soil Biol. Biochem.**, Elmsford, v. 23, n. 1, p. 83-88, 1991. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(91\)90166-H](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(91)90166-H)>. Acesso em: 31 ago. 2016.

PANISSON, E. **Giberela em trigo**: intensidade, danos e controle químico. 2001. 116 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2001.

PANISSON, E.; REIS, E. M.; BOLLER, W. Efeito da época, do número de aplicações e de doses de fungicida no controle da giberela em trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 5, p. 495-499, set./out. 2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582002000500010>>. Acesso em: 25 out. 2016.

PARRY, D. W.; JENKINSON, P.; MCLEOD, L. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals: a review. **Plant Pathology**, Londres, v. 44, n. 2, p. 207-238, abr. 1995. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3059.1995.tb02773.x>>. Acesso em: 11 fev. 2016.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy. fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, mar./abr. São Paulo, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532003000200006>. Acesso em: 20 jul. 2016.

PESTKA, J. J.; SMOLINSKI, T. A. Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, Washington, v. 8, n. 1, p. 39-69, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15762554>>. Acesso em: 29 ago. 2016.

PESTKA, J. J.; ZHOW, H. R.; MOON, Y.; CHUNG, Y.J. Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: unraveling a paradox. **Toxicology Letters**, Amsterdã, v. 153, n. 1, p. 61-73, 2004. Disponível em: <<http://europemc.org/abstract/med/15342082>>. Acesso em: 27 nov. 2016.

PETTERSSON, H.; ABERG, L. Near infrared spectroscopy for determination of mycotoxins in cereals. **Food Control**, Guildford, v. 14, n. 4, p. 229-232, maio 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00011-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00011-2)>. Acesso em: 23 nov. 2016.

PINNOW, C.; BENIN, G.; VIOLA, R.; SILVA, C. L.; GUTKOSKI, L. C.; CASSOL, L. C. Qualidade industrial do trigo em resposta à adubação verde e doses de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 1, p. 20-28, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/brag/v72n1/1653_13.pdf>. Acesso: 03 set. 2016.

PLACINTA, C. M.; D'MELLO, J. P. F.; MACDONALD, A. M. C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* micotoxins. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v. 78, n. 1-2, p. 21-37, mar. 1999. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401\(98\)00278-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00278-8)>. Acesso em: 03 abr. 2016.

POMERANZ, Y. Chemical composition of kernel structures. In: **Wheat: chemistry and technology**. 3. ed. Eagan: American Association of Cereal Chemists, 1988. p. 97-158.

POPPER, L; SCHÄFER, W.; FREUND, W. **Future of flour: a compendium of flour improvement**. Kansas City: Agrimedia, 2006. 325 p.

PRANGE, A.; BIRZELE, B.; KRÄMER, J.; MEIER, A.; MODROW, H.; KÖHLER, P. *Fusarium*-inoculated wheat: deoxynivalenol contents and baking quality in relation to infection time. **Food control**, Guildford, v. 16, n. 8, p. 739-745, out. 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.06.013>>. Acesso em: 17 dez. 2016.

PRIETO-SIMÓN, B.; NOGUER, T.; CAMPÀS, M. Emerging biotools for assessment of mycotoxins in the past decade. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 7, p. 689-702, 2007. Disponível: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2007.05.012>>. Acesso em: 18 out. 2016.

QUAGLIA, G. **Ciencia y tecnologia de la panificación**. Zaragoza: Acribia, 1991. 485 p.

RAMIREZ, L.M.; CHULZE, S.; MAGAN, N. Temperature and water activity effects on growth and temporal deoxynivalenol production by two Argentinean strains of *Fusarium graminearum* on irradiated wheat grain. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdã, v. 106, p. 291-296, 2006.

REIS, E. M. **Doenças do trigo: fusariose**. 2. ed. São Paulo: Merck Sharp & Dohme, 1988. 12 p. v. 3.

_____. **Doenças do trigo: fusariose**. São Paulo: Merck Sharp & Dohme, 1985. 28 p. v. 3.

REIS, E. M.; BLUM, M. M. C.; CASA, R. T.; MEDEIROS, C. A. Grain losses caused by the infection of wheat heads by *Gibberellazeae* in southern Brazil, from 1984 to 1994. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 22, p. 134-137. 1996.

REIS, E. M.; CASA, R. T. **Patologia de sementes de cereais de inverno**. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, 1998.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; MEDEIRA, C. A. **Diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno**. Londrina: E. S. Comunicação, 2001. 96 p.

REUNIÃO DA COMISSÃO CENTRO-SUL BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRITICALE, 19., 2004, Londrina, PR. **Informações Técnicas das Comissões Centro-Sul Brasileira de Pesquisa de Trigo e de Triticale para a Safra de 2004**. Londrina, IAPAR: Embrapa Soja, 2004. 214 p. Disponível em: <<http://docplayer.com.br/40334626-Informacoes-tecnicas-das-comissoes-centro-sul-brasileira-de-pesquisa-de-trigo-e-de-triticale-para-a-safra-de-2004.html>>. Acesso em: 11 nov. 2016.

RONQUIM, C. C. **Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais**. Campinas: Embrapa, 2010. 26 p. (Embrapa Monitoramento por Satélite. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 8). Disponível em:

<<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/882598/1/BPD8.pdf>>. Acesso em: 03 jan. 2017.

ROSA FILHO, O. **Introdução ao manejo para qualidade industrial em trigo**. Passo Fundo: Biotrigo, 2010. 6 p. (Informativo técnico Biotrigo, 1). Disponível em: <<http://biotrigo.simor.com.br/arq/20121010144736116532143.pdf>>. Acesso em: 02 maio 2016.

ROTH, G. W.; MARSHALL, H. G.; HATLEY, O. E.; HILL J. R., R. R. Effect of management practices on grain yield, test weight, and lodging of soft red winter wheat. **Agronomy Journal**, Madison, v. 76, n. 3, p. 379-383, jun. 1987. Disponível em: <<https://dl.sciencesocieties.org/publications/aj/abstracts/76/3/AJ0760030379?access=0&view=pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2016.

ROTTER, B. A.; PRELUSKY, D. B.; PESTKA, J. J. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). **Journal of Toxicology and Environmental Health**, Washington, v. 48, n. 1, p. 1-34, maio 1996. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8637056>>. Acesso em: 10 nov. 2016.

SABIN, J. G., FERRÃO, M. F., FURTADO, J. C. Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos. Parte II: Análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 40, n. 3, jul./set. 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322004000300015>>. Acesso em: 19 dez. 2016.

SANGOI, L.; BERNS, A. C.; ALMEIDA, M. L.; ZANIN, C. G.; SCHWEITZER, C. Agronomic characteristics of wheat cultivars in response to the time of nitrogen fertilizer covering. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p. 1564-1570, nov./dez. 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000600010>>. Acesso em: 18 nov. 2016.

SANTOS, J. S. **Aplicação biotecnológica: anticorpo monoclonal anti-desoxinivalenol para monitoramento e avaliação da exposição pelo consumo de trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 2009. 134 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.uel.br/document/?code=vtls000151917>>. Acesso em: 01 set. 2016.

SCAFI, S. H. F. **Espectroscopia no Infravermelho próximo para identificação de medicamentos falsificados**. 2000. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Campinas, São Paulo, 2000. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000211355>>. Acesso em: 29 ago. 2016.

SCALCO, M. S.; FARIA, M. A.; GERMANI, R.; MORAIS, A. R. Campo experimental da Universidade Federal de Lavras/UFLA, **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 2, p.400-410, mar./abr. 2002. Disponível em: <<http://www.editora.ufla.br/index.php/component/phocadownload/category/45-volume-26-numero-2?download=800:vol26numero2>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

- SCHEUER, P. M.; FRANCISCO, A.; MIRANDA, M. Z.; LIMBERG, V. M. Trigo: características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 13, n. 2, p. 211-222, 2011. Disponível em: <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev132/Art13211.pdf>>. Acesso em: 19 mar. 2016.
- SCHNEIDER, E.; CURTUI, V.; SEIDLER, C.; DIERICH, R.; USLEBER, E.; MARTLBAUER E. Rapid methods for deoxynivalenol and other trichothecenes. **Toxicology Letters**, Amsterdã, v. 153, p. 113-121, out. 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.04.038>>. Acesso em: 29 out. 2016.
- SCHRODER, J. J.; NEETESON, J. J.; OENEMA, O.; STRUIK, P. C. Does the crop or the soil indicate how to save nitrogen in maize production? Reviewing the state of art. **Field Crops Research**, Amsterdã, v. 66, n. 2, p. 151-164, maio 2000. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00072-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00072-1)>. Acesso em: 03 abr. 2016.
- SCHROEDER, H. W.; CHRISTENSEN, J. J. Factors affecting the resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 53, n. 7, p. 831-838, jul. 1963.
- SCUSSEL, V. M. Fungos e micotoxinas associados a grãos armazenados. In: LORINI, I.; MIIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M. **Armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Bio Geneziz, 2002. p. 674-804.
- SENAI (SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM INDUSTRIAL). **Fundamentos da química e controle de qualidade dos cereais**. Brasília: SENAI, 2009.
- SIESLER, H. W.; OZAKI, Y.; KAWATA, S.; HEISE, H. M. **Near-infrared spectroscopy: principles, instruments, applications**. Weinheim: Wiley-VCH, 2002.
- SILVA, P. R. F.; STRIEDER, M. L.; COSER, R. P. S.; RAMBO, L.; SANGOI, L.; ARGENTA, G.; FORSTHOFER, E. L.; SILVA, A. A. Grain yield and kernel protein content increases of maize hybrids with late nitrogen side-dresses. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 62, n. 5, p. 487- 492, set./out. 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162005000500014>>. Acesso em: 15 nov. 2016.
- SNIJDERS, C. H. A. Resistance in wheat to *Fusarium* infection and trichotecene formation. **Toxicology Letters**, Amserdã, v. 153, p. 37-46, out. 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.04.044>>. Acesso em: 09 set. 2016.
- SO, C.; LEBOW, S. T.; GROOM, L. H.; RIALS, T. G. The application of near infrared (NIR) spectroscopy to inorganic preservative-treated wood. **Wood and Fiber Science**, Madison, v. 36, n. 3, p. 329-336, jul. 2004. Disponível em: <https://www.fpl.fs.fed.us/documnts/pdf2004/fpl_2004_so001.pdf>. Acesso em: 18 maio 2016.
- SOARES SOBRINHO, J. **Efeito de doses de nitrogênio e de lâminas de água sobre as características agrônômicas e industriais em duas cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 102 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 1999.

SOARES, L. V. **Curso básico de instrumentação para analistas de alimentos e fármacos**. Barueri: Manole, 2006.

SOUZA, M. L. P.; ANDREOLI, C. V.; AMARAL, M. B.; DOMASZAK, S. C. Levantamento preliminar dos teores de metais pesados em alguns solos do Paraná. **Revista Sanare**, Curitiba, v. 5, n. 5, p. 68-75, 1996.

SOUZA, T. M. et. al. Composição química e desoxinivalenol em trigo da região Centro- Sul do Paraná: adubação nitrogenada em cobertura associada com *Azospirillum brasilense* **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 327-342, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n1p327>>. Acesso em: 10 ago. 2016.

SUDAKIN, D.L. Trichothecenes in the environment: relevance to human health. **Toxicology Letters**, Amsterdã, v. 143, p. 97-107, jul. 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4274\(03\)00116-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4274(03)00116-4)>. Acesso em: 02 abr. 2016.

SUTTON, J. C. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 4, n. 2, p. 195-209, fev. 1982. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/07060668209501326>>. Acesso em: 17 mar. 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 954 p.
_____. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 319 p.

TAKABAYASHI YAMASHITA, Cássia Reika. **Imunotécnica para detecção de toxinas naturais em matrizes alimentares**: desenvolvimento de hibridoma e imunoensaios empregando anticorpo monoclonal. 2013. 141 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. **Fungos em alimentos**: ocorrência e detecção. Campinas: ITAL/Núcleo de Microbiologia, 2001.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ALVAREZ, R. C. F.; FREITAS, J. G.; ARF, O.; SÁ, M. E. Resposta de cultivares de trigo irrigado por aspersão ao nitrogênio em cobertura na região do Cerrado. **Acta Scientiarum-Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 3, p. 421-425, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v29i3.471>>. Acesso em: 19 mar. 2016.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ARF, O.; ALVAREZ, R. C. F.; MAEDA, A.S.; DE SÁ, M. E. Response of wheat cultivars to nitrogen with and without fungal treatment. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 7, n. 4, p. 626-634, out. 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/73631>>. Acesso em: 03 mar. 2016.

TELLER, G. L. Non-protein nitrogen compounds in cereals and their relation to the nitrogen factor from protein in cereals and bread. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 9, p. 261-274, 1932.

TIRITAN, C.S.; FOLONI, J.S.S; SATO, A.M; MENGARDA, C.A. SANTOS. D.H.

Influência do Molibdênio Associado ao Cobalto na Cultura da Soja, Aplicados em Diferentes Estágios Fenológicos. **Colloquium Agrariae**, v. 3, n. 1, p. 1-07, 2007. Disponível em: <<http://revistas.unoeste.br/revistas/ojs/index.php/ca/article/view/113/525>>. Acesso em: 16 nov. 2016.

USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE). **Economic Research Service**. Washington: USDA, 2016. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/topics/crops/wheat>>. Acesso em: 02 nov. 2016.

_____. **Production, supply and distribution**. Washington: USDA, 2016. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/>>. Acesso em: 01 nov. 2016.

VALENTINI, L.; COELHO, F. C.; FERREIRA, M. S. Teor de nitrogênio foliar e produtividade de três cultivares de milho (*Zea mays*) submetidos à adubação nitrogenada e molíbdica. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 52, n. 302, p. 567-577, 2005. Disponível em: <<http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/viewFile/3071/954>>. Acesso em: 19 maio 2016.

VIEIRA, R. D.; FORNASIERI FILHO, D.; MINOHARA, L.; BERGAMASCHI, M. C. M. Efeito de doses e de épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na produção e na qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Científica**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 257-264, 1995.

WANG, Y. Z.; MILLER, J. D. Screening techniques and sources of resistance to *Fusarium* head blight. In: KLATT, A. R. **Wheat production constraints in tropical environments**. México: CIMMYT, 1988.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Cyanobacterial toxins: microcystin-Lr in drinking-water**. Genebra: OMS, 2003. Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/cyanobactoxins.pdf>. Acesso em: 18 nov. 2016.

WILCOSON, R. D.; BUSCH, R. H.; OZMAN, E. A. *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. **Plant Disease**, St. Paul, v. 76, n. 6, p. 658-661, jun. 1992.

WINGLER, A.; PURDY, S.; MACLEAN, J. A.; POURTAU, N. The role of sugars in integrating environmental signals during the regulation of leaf senescence. **Journal of Experimental Botany**. v. 57, n. 2, 2006. Disponível em: <goo.gl/fvXm7ncontent_copy>. Acesso em: 13 jun. 2016.

YANO, G. T.; TAKAHASHI, H. T.; WATANABE, T. S. Avaliação de fontes de nitrogênio e épocas de aplicação em cobertura para o cultivo do trigo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 141-148, 2005. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744076001>>. Acesso em: 17 nov. 2016.

ZAGONEL, J., FERNANDES, E. C. Doses e épocas de aplicação de redutor de crescimento afetando cultivares de trigo em duas doses de nitrogênio. **Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, Viçosa, 2007. V. 25, n.2, p.331-339. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582007000200013>>. Acesso em: 18 ago. 2016.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A. Resistência induzida pela nutrição de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 1, p. 275-318, jan. 1993. Disponível em: <<http://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/2360/1/BRT-resistenciaadoencasinduzidapelanutricaoomineraldasplantas-Emcapa.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2016.

ZARDO, F. P. **Análises laboratoriais para o controle de qualidade da farinha de trigo**. Rio Grande do Sul: Ministério da Educação Secretaria de Educação Profissional/Tecnológica Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, 2010.

ZHENG, M. Z.; RICHARD, J. L.; BINDER, J. A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 161, p. 261-273, maio 2006. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11046-006-0215-6>>. Acesso em: 29 fev. 2016.

ZOZ, T.; STEINER, F.; TESTA, J. V. P.; SEIDEL, E. P.; FEY, R.; CASTAGNARA, D. D.; ZOZ, A. Foliar fertilization with molybdenum in wheat. **Semina**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 633-638, 2012. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/viewFile/8949/10475>>. Acesso em: 11 set. 2016.