



**Importância dos Fatores Bióticos (pragas e doenças) em Pré-colheita na Qualidade e Conservação da Castanha**

**Marta Ualissene Cuamba**

*Dissertação apresentada ao Instituto Politécnico de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar*

Orientado por:

**Professora Doutora Maria Eugénia Madureira Gouveia**

**Doutor Valentim Pereira dos Santos Coelho**

**Março de 2020**

Dedico essa dissertação a Deus, ao amor da minha vida Laitela Cuamba Laitela (filho), meu marido Laitela pelo incentivo, auxílio e apoio. Aos meus queridos pais Pedro e Julieta (in memoria), por serem exemplo de vida e base forte da minha caminhada, tudo o que tenho feito é sempre por e para vocês, aos meus irmãos que sempre me estimularam a dar este grande passo.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus, por todas as graças concebidas e por toda a força para conseguir seguir o meu caminho da melhor forma possível.

Agradeço aos meus orientadores, Professora Doutora Maria Eugénia Madureira Gouveia e Doutor Valentim Pereira dos Santos Coelho da Escola Superior Agrária, pela grande ajuda ao longo do trabalho do laboratorial e escrito, permanente disponibilidade, incentivo e amizade demonstrada.

Quero agradecer imensamente à Dra. Rosalina Marrão pelo apoio e tempo que me dedicou.

Ao Laboratório de Sanidade Vegetal do Departamento de Produção e Tecnologia Vegetal (DPTV) do IPB/ESA por ter disponibilizado todos os recursos à realização deste trabalho.

Aos professores do Instituto Politécnico de Bragança (IPB) por todos os ensinamentos dedicados ao longo desses anos.

Às amigadas que construí em Moçambique e em Portugal, em especial, Filipe Lema, Estefania e a Maiyara, saibam que terão sempre um lugar em Moçambique para vocês.

À minha família, apesar da distância, pelo apoio, dedicação e carinho incondicional.

Ao meu colega, elemento do Laboratório Sanidade Vegetal, Jorge pelo incentivo e boa disposição sempre demonstrada.

Por último, àqueles que não foram mencionados, mas que indiretamente contribuíram para este trabalho, o meu sincero agradecimento.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b> Superfície de Castanheiros e Área de Produção Declarada e Colheita, por regiões de Portugal-----	16
<b>Figura 1.2</b> – Bichado-da-castanha ( <i>Cydia splendana</i> ) larva, (à direita) e adulto (à esquerda).....	24
<b>Figura 1.3</b> – Ciclo biológico de <i>Cydia splendana</i> (Fonte: Rosalina Marrão) .....	25
<b>Figura 1.4.</b> Gorgulho-da-castanha, <i>Curculio</i> (= <i>Balaninus</i> ) <i>elephas</i> Gyllenhal. Larva (à esquerda) e adulto ( <i>Curculio elephas</i> ) (à direita). .....	26
<b>Figura 1.6.</b> Castanhas com sintomas de podridão em armazenamento (Coelho e Gouveia, 2017). .....	30
<b>Figura 3.1.</b> Souto de Espinhosela no concelho de Bragança.....	37
<b>Figura 3.2.</b> Castanhas atacadas por fungos (A), castanhas atacadas por bichado-da-castanha (B) e castanhas atacadas por Gorgulho-da-castanha (C). .....	38
<b>Figura 3.3.</b> Isolados de fungos a crescer em meio PDA.....	39
<b>Figura 3.4.</b> Lote de castanhas lavadas (à esquerda) e lote de castanhas sem tratamento (sem lavar) (à direita) .....	41
<b>Figura 3.5.</b> Incubadora de refrigeração.....	41
<b>Figura 3.6.</b> Pesagem das castanhas.....	42
<b>Figura 4.1.</b> Teor de humidade (%) das castanhas dos diferentes soutos em estudo, na altura da colheita.....	46
<b>Figura 4.2.</b> Percentagem de castanhas atacadas por Bichado-da-castanha nos diferentes locais (Espinhosela, Samil, Espinhoso, Parâmio e Sobrado). .....	47
<b>Figura 4.3.</b> Percentagem de castanhas atacadas por Gorgulho-da-castanha nos diferentes locais (Espinhosela, Samil, Espinhoso, Parâmio e Sobrado).....	47
<b>Figura 4.6.</b> Principais espécies de fungos identificados neste estudo .....	51
<b>Figura 4.7.</b> Abundância relativa das espécies de fungos isoladas das castanhas nos diferentes locais de estudo.....	52
<b>Figura 4.8.</b> Castanhas mostrando sintomas do ataque de diferentes fungos (A – Sintomatologia associada a <i>Gnomoniopsis castaneae</i> , B – Sintomatologia associada a <i>Phacidium lacerum</i> e <i>Penicillium</i> sp., C – Sintomatologia associada a <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Ciboria americana</i> e <i>Sclerotinia pseudotuberosa</i> , D – Sintomatologia associada a <i>Fusarium avenaceum</i> ). .....	53

<b>Figura 4.9.</b> Redução de peso (%) das castanhas dos diferentes locais de estudo (Espinhosela, Espinhoso, Samil, Sobrado e Parâmio) sujeitas a dois tratamentos modalidades (1 - imersão em água corrente e 2 - sem tratamento) em três diferentes tempos (imediatamente após a colheita - T0, um mês de armazenamento após a colheita - T1 e dois meses de armazenamento após a colheita - T2) quando conservadas a 12°C. ....	55
<b>Figura 4.10.</b> Percentagem de humidade das castanhas nos diferentes locais estudados (Espinhosela, Parâmio, Samil, Espinhoso e Sobrado) nos diferentes tempos estudados (T0 - imediatamente após a colheita, T1 - um mês após a colheita, T2 - dois meses após a colheita). ....	58
<b>Figura 4.11.</b> Percentagem de castanhas, sãs, atacadas for fungos, Bichado da-castanha e Gorgulho-da-castanha. ....	59
<b>Figura 4.12.</b> Percentagem de castanhas atacadas por fungos, Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha nos diferentes locais de estudo (Sobrado, Parâmio, Espinhoso, Samil e Espinhosela). ....	60
<b>Figura 4.13.</b> atacadas por Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha, nas modalidades estudadas (castanhas sujeitas à imersão por água corrente, e sem tratamento). (* sem diferenças significativas entre os tratamentos). ....	60
<b>Figura 4.14.</b> Percentagem de frutos atacados por insetos (Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha) e de podridões provocadas por fungos em diferentes locais de estudo (Espinhosela, Espinhoso, Samil, Sobrado e Parâmio) e sujeitas a dois tratamentos modalidades (1 - imersão em água fria e 2 - sem tratamento) observadas imediatamente após a colheita (T0). ....	62
<b>Figura 4.15.</b> Percentagem de frutos atacados por insetos (Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha) e de podridões provocadas por fungos, de castanhas de diferentes locais de estudo (Espinhosela, Espinhoso, Samil, Sobrado e Parâmio) e sujeitas a dois tratamentos modalidades (1 - imersão em água corrente e 2 - sem tratamento) observadas após 30 dias (T1). ....	62
<b>Figura 4.16.</b> Percentagem de frutos atacados por insetos (Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha) e de podridões provocadas por fungos, de castanhas de diferentes locais de estudo (Espinhosela, Espinhoso, Samil, Sobrado e Parâmio) e sujeitas a dois tratamentos modalidades (1 - imersão em água corrente e 2 - sem tratamento) observadas após 60 dias (T2). ....	63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.1</b> Evolução da área, produção de castanha e rendimento de 2005 a 2017, em Portugal (FAOSTAT, 2019).....	15
<b>Tabela 1.2.</b> Classificação taxonómica do castanheiro europeu .....	15
Tabela 1.3. Composição química da castanha (adaptado de Conedera <i>et al.</i> , 2004)....	19
<b>Tabela 1.4.</b> Classificação da Qualidade da Castanha .....	21
<b>Tabela 1.5.</b> Classificação taxonómica do Bichado-da-castanha ( <i>Cydia splendana</i> ) ...	23
<b>Tabela 1.7.</b> Espécies de fungos identificadas em castanhas durante o armazenamento (Coelho e Gouveia, 2017).....	31
Tabela 1.8. Tratamentos das castanhas após a colheita.....	33
<b>Tabela 3.1.</b> Locais de amostragem (recolha de amostras).....	37
<b>Tabela 4.1.</b> Peso médio de 50 castanhas nos locais estudados (Espinhosela, Parâmio, Samil, Espinhoso e Sobrado) (média±desvio padrão).....	45
<b>Tabela 4.6.</b> Comportamento biológico das diferentes espécies de fungos identificadas	54
<b>Tabela 4.7.</b> Percentagem de alteração de cor em castanhas de Samil e Espinhosela (Bragança) quando armazenadas durante três meses (1 – sem alteração de cor, 2 – alteração de cor até 25%, 3 – alteração de cor até 50%, 4 – alteração de cor até 75%, 5 – alteração de cor até 100%).....	57
<b>Tabela 4.9.</b> Valores do peso seco (gr) nos diferentes locais de estudo (Espinhosela, Espinhoso, Samil, Sobrado e Parâmio) em três diferentes tempos (T0, T1, T2). .....	58

## **LISTA DE ABREVEATURAS**

<b>BLAST</b>	Basic Local Alignment Search Tool
<b>DOP</b>	Denominações de Origem Protegida
<b>DGAV</b>	Direção-Geral de Alimentação e Veterinária
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization of the United Nations
<b>Gr</b>	Gramma
<b>HR</b>	Humidade relativa
<b>INE</b>	Instituto Nacional de Estatística
<b>E.U</b>	União Europeia
<b>NCBI</b>	Centro Nacional de Informação Biotecnológica
<b>PDA</b>	Potato Dextrose Agar, 39 gr/L
<b>PCR</b>	Reação em cadeia da polimerase
<b>ADN</b>	Reação em cadeia da polimerase
<b>TM</b>	Trás-os-Montes
<b>UNECE</b>	United Nations Economic Commission for Europe
<b>UV</b>	Ultra-violeta

## ÍNDICE

1.1. Introdução geral .....	14
1.1.2. Taxonomia e descrição botânica do castanheiro.....	15
1.1.3. Distribuição dos Souto em Portugal .....	16
1.2. A castanha.....	17
1.2.1 Estados fisiológicos do castanheiro .....	17
1.2.2 Composição físico-química e valor nutricional da castanha .....	17
1.3. Normas de Comercialização da Castanha (Sweet Chestnut) - UNECE (United Nations Economic Comission for Europe) FFV-39.....	20
1.3.1. Qualidade para o mercado dos frescos .....	21
1.3.2. Qualidade para o mercado industrial .....	22
1.4. Fatores bióticos e abióticos que afetam a qualidade das castanhas em pré- colheita .....	22
1.4.1. Principais pragas que afetam a castanha.....	23
1.4.2. Bichado-da-castanha.....	23
1.4.3. Gorgulho-da-castanha.....	25
1.5. Meios de luta das principais pragas da castanha .....	27
1.5.1. Luta Cultural.....	28
1.5.2. Luta Química .....	28
1.5.3. Luta Biológica .....	28
1.6. Fungos associados a podridões das castanhas em pré-colheita, durante a colheita e em armazenamento.....	28
1.7. Tratamento de castanha em pós-colheita e o seu armazenamento.....	32
CAPÍTULO 2 .....	34
OBJETIVOS.....	34
2.1. Objetivo geral .....	35
2.2. Objetivos específicos .....	35



CAPÍTULO 3 .....	36
MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1. Amostragem.....	37
3.1.1. Locais de amostragem .....	37
3.2. Recolha das amostras e processamento das castanhas em laboratório ....	37
3.3. Avaliação do estado sanitário das castanhas .....	38
3.3.1. Identificação das pragas das castanhas .....	38
3.3.2. Pesquisa dos fungos associados com as podridões da castanha .....	38
3.2.4. Abundância relativa .....	40
3.2.5. Comportamento biológico dos diferentes fungos .....	40
3.3. Tratamento pós-colheita .....	41
3.4. Avaliação de parâmetros físicos e fisiológicos em diferentes tempos de conservação .....	42
3.4.1. Perda de peso .....	42
3.4.2. Humidade.....	42
3.4.3. Alteração de cor e germinação.....	43
3.5. Análise estatística .....	43
CAPÍTULO 4 .....	44
RESULTADOS .....	44
4.1. Parâmetros Físicos .....	45
4.1.1 Peso médio das castanhas na colheita.....	45
4.1.2. Teor de humidade das castanhas na colheita .....	46
4.2. Estado sanitário das castanhas na colheita.....	46
4.2.1 Pragas da castanha .....	46
4.2.2. Podridões das castanhas.....	47
4.3. Fungos associados com as podridões .....	48
4.3.1 Comportamento biológico dos diferentes fungos .....	53

4.4. Avaliação da perda de peso durante armazenamento .....	54
4.5. Alteração de cor e germinação durante o armazenamento .....	56
4.6. Percentagem de humidade durante armazenamento .....	57
4.7. Avaliação do efeito do tratamento por água e tempo de conservação sobre os parasitas das castanhas .....	59
CAPÍTULO 5. ....	64
DISCUSSÃO e CONCLUSÕES .....	64
CAPÍTULO 6. ....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	70

## RESUMO

A castanha em fresco é um fruto de elevada qualidade, mas facilmente perecível. A qualidade é influenciada por fatores bióticos e abióticos que ocorrem em pré-colheita, durante a colheita e em pós-colheita. As podridões das castanhas associadas a fungos podem desenvolver-se durante o crescimento dos frutos ainda na árvore, quando da queda dos ouriços na altura da colheita ou por contaminação durante o armazenamento. As podridões associadas a *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Phoma castanea*, *Acrospeira mirabilis* e *S. pseudotuberosa* são frequentes em condições de conservação e provocam prejuízos muito elevados. Pretende-se, com este trabalho, avaliar os fatores pré-colheita que afetam a produção e a qualidade final da castanha. Para concretizar o estudo selecionaram-se 5 soutos na região de Bragança, tendo-se recolhido castanhas em 3 períodos diferentes, durante o período de colheita. Será avaliado o estado sanitário das castanhas em diferentes tempos de conservação (imediatamente após a colheita, um mês após a colheita e dois meses após a colheita, com as castanhas armazenadas em camara de frio (frigorífico) a 12°C. As castanhas são avaliadas quanto á presença de pragas (Bichado-da-castanha ou Gorgulho-da-castanha) e verificado a presença de fungos. Nas castanhas com podridões observaram-se as características morfológicas dos sintomas e procede-se ao isolamento do fungo em meio de cultura PDA (Potato Dextrose Agar, 39 gr/L). A identificação das espécies será realizada por observação morfológica dos isolados e por técnicas moleculares por amplificação e sequenciação da região ITS do ADN ribossomal (ADNr) utilizando os iniciadores universais ITS1 e ITS4.

**Palavras-chave:** *Castanhas, contaminação, fungos, pragas, armazenamento, qualidade.*

## ABSTRACT

The fresh chestnut is a fruit of high quality, but easily perishable. Quality is influenced by biotic and abiotic factors that occur in pre-harvest, during harvest and post-harvest. Chestnut nut rots associated with fungi may develop during the growth of the fruits still in the tree, during the fall of the burrs at harvest time or through contamination during storage. The rot associated with *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *P. castanea*, *Acrospeira mirabilis* and *S. pseudotuberosa* are frequent in that conservation conditions and cause very high losses. This work intends to evaluate the pre-harvest factors that affect the final production and quality of the nuts. In order to complete the study, 5 chestnut trees were selected in the region of Bragança, and chestnuts nuts were collected in 3 different periods during the harvest period. The health status of the nuts will be evaluated at different storage times (immediately after harvest, one month after harvest and two months after harvest), when the chestnuts nuts are stored in an incubator at 12° C. The chestnuts are evaluated for the presence of pests (chestnut beetle or brown weevil) and presence of fungi were observed outside and into the kernel. In the nuts with rotting, the morphological characteristics of the symptoms were observed and the fungus was isolated in PDA culture medium (Potato Dextrose Agar, 39 gr/L). Identification of species will be performed by morphologic microscopic observations and molecular techniques by amplification and sequencing of the ITS region of ribosomal DNA (rDNA) using the universal primers ITS1 and ITS4.

**Keywords:** *Chestnuts nuts quality, pre-harvest, harvest and post-harvest quality, spoilage fungi, chestnut pests, chestnuts nuts rots, Chestnut nuts storage.*

**CAPÍTULO 1.**  
**INTRODUÇÃO**

## 1.1. Introdução geral

O castanheiro europeu (*Castanea sativa* Miller) é cultivado há milénios, particularmente na Europa e na região Mediterrânica Oriental, sendo espontâneo na Europa Meridional, regiões da Ásia Menor, sul da Pérsia, Cáucaso, margens do mar Cáspio e Norte de África (Paiva, 1990). Nas regiões onde existem castanheiros, a castanha foi uma das mais importantes espécies frutícolas da antiguidade, sendo um dos produtos agrícolas mais consumidos pela população rural (Fernandes, 1970; Case, 2007).

Os principais produtores de castanha no mundo são China, Coreia, Itália, Japão. Espanha, Portugal e França. De acordo com os dados da Food and Agriculture Organization (FAO) a produção mundial de castanha representava, em 2017, cerca de 2,32 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2019) das quais 2,08 milhões de toneladas são produzidas na Ásia. A produção de castanhas na Europa representava cerca de 152000 toneladas em 2017 (FAOSTAT, 2019). Portugal é um dos mais importantes produtores europeus de castanhas, com cerca de 30000 toneladas.

Em Portugal, têm-se assistido a um aumento significativo na área de castanheiros (Tabela 1.1), com especial destaque para a região de Trás-os-Montes com uma área próxima dos 37 000 h (FAOSTAT, 2019).

As áreas mais extensas de castanheiro situam-se em Trás-os-Montes (Carrazeda de Montenegro, Bragança e Vinhais), Beira Interior (Trancoso, Sabugal e Guarda) e com menor significado no Alentejo (Castelo de Vide, Marvão e Portalegre) (Coelho, 1999). A região de Trás-os-Montes é o principal produtor de castanha, representando em 2007, quase 85% do total nacional de produção. (Laranjo *et al.*, 2007). Em Trás-os-Montes a castanha destina-se à exportação tanto em fresco como transformada, sendo cerca de 65% da produção vendida para a União Europeia.

Em Portugal existem quatro “Denominações de Origem Protegida” (DOP) para a castanha: Castanha da Terra Fria, Castanha dos Soutos da Lapa, Castanha da Padrela e Castanha de Marvão. As variedades mais comuns são a ‘Judia’, a ‘Longal’, a ‘Côta’ e a ‘Martaínha’. A variedade Longal apresenta uma vantagens em relação a outras variedades, pelo facto de ter uma capacidade de conservação e ser monospérmica. As cultivares Judia e Martaínha apresentam calibres grandes, o que as valoriza, principalmente no mercado português (Laranjo *et al.*, 2009). Com a realização de alguns

estudos, alguns autores sugerem que a castanha é uma excelente fonte de ácidos gordos essenciais e minerais tais como o (K, P e Mg), e algumas vitaminas, fibra dietética e aminoácidos (Yang, Jiang, Gu, Yang, & Jiang, 2010).

**Tabela 1.1** Evolução da área, produção de castanha e rendimento de 2005 a 2017, em Portugal (FAOSTAT, 2019).

Ano	Área (ha)	Produção (t)	Rendimento (kg/ha)
2017	36759	29875	812,7
2016	35718	26780	749,8
2015	35595	27628	776,2
2014	35352	18464	522,3
2013	35168	24739	703,5
2012	34814	19130	549,5
2011	34648	18721	527,3
2010	34616	22350	645,7
2009	34591	24305	702,6
2008	33732	23916	709,0
2007	33117	24251	732,3
2006	32533	33612	1033,2
2005	32042	23491	733,1

### 1.1.2. Taxonomia e descrição botânica do castanheiro

O castanheiro foi classificado por Miller, em 1768, no género *Castanea* e nome científico *Castanea sativa* Mill. O género *Castanea* pertence à divisão Angiospermae, classe dicotiledonea, ordem Fagales e família Fagaceae (Tabela 1.2).

**Tabela 1.2.** Classificação taxonómica do castanheiro europeu

TAXONOMIA DA CASTANHA	
Divisão	Angiospermas
Classe	Dicotiledónea
Ordem	Fagales
Família	Fagaceae
Género	Castanea Miller
Espécie	Castanea sativa Miller

### 1.1.3. Distribuição dos Souto em Portugal

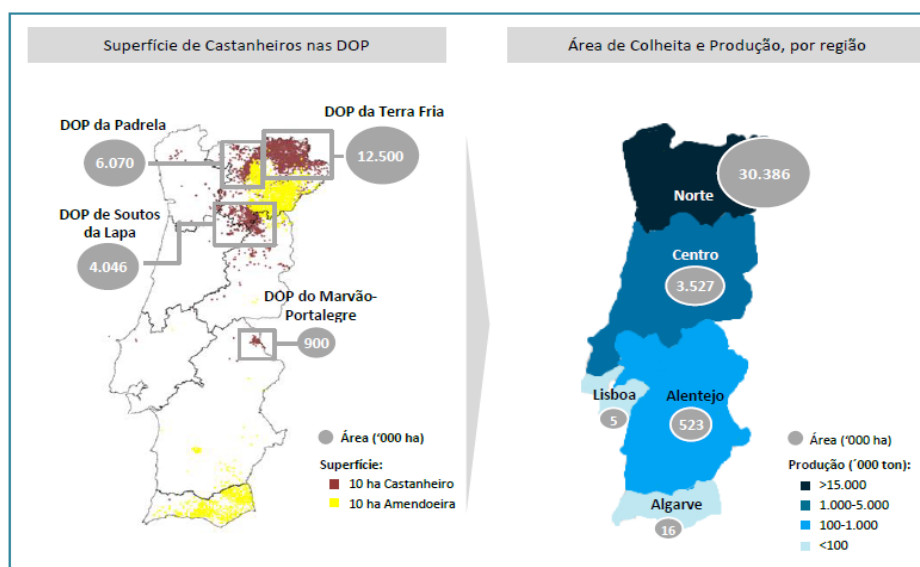
Segundo Paiva (1990), os soutos em Portugal está melhor adaptado aos solos frescos, profundos e leves do que aos graníticos, xistosos ou arenosos das zonas de montanha do Centro interior e Norte de Portugal. Para Bounous e Abreu (1998), também se tem verificado que muitos soutos em Portugal se situam em altitudes compreendidas entre os 700 e os 1 000 m.

Em 1999, das 22 660 explorações (RGA, 2001) e dos agricultores que se dedicavam à cultura do castanheiro, 73% situavam-se na região de Trás-os-Montes “TM” (Figura 1.1).

Mais de 80% da área ocupada por castanheiros, está concentrada na região Transmontana, destacada e distribuída basicamente em duas regiões principais que são da Terra Fria, Padrela e Soutos da Lapa, com condições climáticas edáficas muito variadas, sobretudo na região norte do país (fórum florestal, 2009)

Muitas vezes os espaços ou terrenos onde se têm instalado os soutos tem variado bastante no que diz respeito ao suporte radicular, desde os terrenos mais profundos e o material originário abaixo de 160 cm até aos solos muito delgados e pedregosos (Portela *et al.*, 1998; Portela e Pinto, 2004).

**Figura 1.1** Superfície de Castanheiros e Área de Produção Declarada e Colheita, por regiões de Portugal



**Fonte:** Recenseamento Agrícola 2009; INE dados de 2010; *Castanheiros técnicos e práticas*; Análise Leadership BC



## **1.2. A castanha**

Em botânica a castanha é considerado um aquênio, por ser uma fruta que não se abre durante a sua maturidade (indeiscente) e é aderente à semente e não soldada a ela. Em alguns casos as introfecções podem ser efetuadas, provocando uma completa sutura dos frutos em diversas sementes. Em muitos casos a castanha é protegida por uma concha espinhosa (cúpula ou ouriço) à qual se encontra presa através da cicatriz hilária. (Portela, 1994).

O ouriço é formado a partir de um receptáculo, e desenvolve – se até atingir mais ou menos 10 cm de diâmetro, são inicialmente de cor verdes com o passar do tempo vão se tornando amareladas ou acastanhadas e são revestidas de brácteas espinhosas, compridas e fasciculadas. O ouriço é deiscentes e é constituído por 2-4 valvas lobadas por onde surgira 2-3 castanhas (Brio *et al.*, 1998; Guerreiro, 1957; Humphries *et al.*, 1996).

### **1.2.1 Estados fisiológicos do castanheiro**

Segundo Bento (2011), a castanha possui as 4 fases que são: foliação, floração, frutificação e desfolhamento. A fase vegetativa, ou fase de foliação tem ocorrido nos finais de março, enquanto a fase da floração ocorre quando as temperaturas médias são superior a 15 °C, com o surgimento das flores masculinas, que aparecem entre os meses de maio e junho e um mês depois vão aparecer as flores femininas. Segue-se a frutificação onde ocorre o amadurecimento das castanhas, e a soma das temperaturas atingem os 2100 °C após a floração. É nesta fase que vai acontecer a queda das castanhas que geralmente tem acontecido entre os meses de outubro e novembro. E, por fim, a fase de desfolhamento do castanheiro que normalmente ocorre em novembro após a queda do fruto (Bento, 2011).

### **1.2.2 Composição físico-química e valor nutricional da castanha**

O fruto do castanheiro é um aquênio, protegido do exterior, por uma cúpula espinhosa que se conhece como ouriço (Cortizo *et al.*, 1999). Cada ouriço tem normalmente 1 a 3 frutos (castanhas), que apresentam uma coloração castanha na maturação, quando ocorre a queda dos ouriços. A maturação das castanhas ocorre geralmente de setembro até novembro e depende das variedades e da latitude (Cortizo *et al.*, 1999). A castanha é consumida em fresco sendo atualmente também destinada à

indústria alimentar. Nesses últimos anos as castanhas estão tendo uma consideração muito valioso na cadeia alimentar devido à recente qualidade nutricional reconhecida e muitos benefícios para saúde humana, elas são consumidas como parte de dietas sem glúten (Pazianas *et al.*, 2005), e a prevenção das doenças cardiovasculares (Sabaté *et al.*, 2000).

A composição química da castanha (Tabela 1.3) destaca-se pelo seu teor de água e uma quantidade elevada de hidratos de carbono (açúcares e amido), incluindo aminoácidos essenciais e um baixo teor de lípidos (Bounous *et al.*, 2000, Conedera *et al.* 2004)

Do ponto de vista nutricional, o componente principal na castanha fresca é a água, que normalmente corresponde a mais de 50% do seu peso (Barreira *et al.*, 2009).

A castanha contém quantidades significativas de fibras em comparação a outras castanhas e sementes comestíveis (ex: castanha de caju, Castanha do Pará, Castanha de baru, etc.). Essas fibras contribuem para a regulação dos níveis de colesterol e da resposta da insulina e também consideradas úteis para a prevenção da obesidade. Relativamente às proteínas, as castanhas apresentam baixas quantidades de proteínas (2-4%) (Vaughan e Geissler, 1997). Quanto aos açúcares, a castanha apresenta tipicamente frutose: 0,57 a 5,32 g/100 g massa seca (ms), glucose: 0,96 a 6,81 g/100 g ms e sacarose: 3,71 a 24,17 g/100 g ms, em quantidades que variam muito em função da cultivar (Barreira *et al.*, 2010).

As castanhas são uma boa fonte de ácidos gordos essenciais e minerais. Quanto às vitaminas é de realçar a vitamina C, vitamina B6 e ácido fólico. A castanha fornece ainda importantes macro-elementos (cálcio, fósforo, potássio, magnésio) e micro-elementos (ferro, zinco manganésio, cobre) (Vaughan e Geissler, 1997; Do Carmo *et al.*, 2010).

**Tabela 1.3.** Composição química da castanha (adaptado de Conedera *et al.*, 2004)

Constituintes	Unidade	Valores (*)
Matéria seca	%	37-50
Amido	g/100g	23-27
Teores em açúcares		
Sacarose	g/100g	3,5-5,5
Glucose	g/100g	0,04-0,10
Frutose	g/100g	0,10-0,20
Fibras alimentares	g/100g	8,2-8,4
Proteínas	g/100g	2,5-5,7
Matéria gorda	g/100g	1,0-2,2
Ácidos gordos	mg/100g	900-1495
Ácido palmítico	mg/100g	100-225
Ácido esteárico	mg/100g	5-21
Ácido oleico	mg/100g	170-476
Ácido linoleico	mg/100g	550-718
Ácido linolênico	mg/100g	78-92
Vitaminas		
A	mg/100g	12
B1	mg/100g	0,1-0,2
B2	mg/100g	0,2-0,3
C	mg/100g	6-23
Niacina PP	mg/100g	1,1
Sais minerais		
Potássio	mg/100g	395-707
Fósforo	mg/100g	70
Magnésio	mg/100g	31-65
Enxofre	mg/100g	48
Calcium	mg/100g	18-38
Cloro	mg/100g	10
Sódio	mg/100g	9
Ferro	mg/100g	1
Magnésio	mg/100g	0,7
Cobre	mg/100g	0,6

(\*) valores de acordo com as variedades francesas

As castanhas são consumidas como parte de dietas sem glúten (Pazianas *et al.*, 2005) e podem prevenir doenças cardiovasculares (Sabaté *et al.*, 2000). As castanhas são livres de colesterol e contêm quantidades consideráveis de fibras, ácido ascórbico e oligoelementos (Gold *et al.*, 2005; Gonçalves *et al.*, 2008). Além disso, são excelentes fontes de substâncias bioativas, incluindo polifenóis (Vasconcelos *et al.*, 2007). Os ácidos fenólicos têm os efeitos benéficos de neutralizar os radicais livres e os minerais pró-oxidativos *in situ*, portanto, são capazes de promover a saúde humana (Caro e Piga, 2008; Shahidi *et al.*, 1992).

### **1.3. Normas de Comercialização da Castanha (Sweet Chestnut) - UNECE (United Nations Economic Commission for Europe) FFV-39.**

A qualidade comercial da castanha está estreitamente relacionada com as especificações requeridas por cada tipologia de mercado, seja o dos frutos frescos, seja o dos transformados, isto é, com as características médias apresentadas por cada variedade relacionadas, quer com a morfologia dos frutos, quer com a sua composição química e valor nutritivo. Destas as mais importantes são:

- A compartimentação ou multiembrionia – a percentagem de frutos com mais do que uma semente;
- As penetrações – quando a semente tem à sua superfície penetrações que permitem que o endocarpo (película interna) aí penetre mais ou menos profundamente, dificultando o descasque;
- O sabor – que é função do grau de açúcar armazenado;
- O calibre – quantificado pelo número de frutos por quilograma de peso;
- O descasque – que se refere mais à facilidade de destaque do endocarpo do que do epicarpo (casca exterior).
- O rachado – existência de fendas na casca (epicarpo), característica varietal, resultando da ação da precipitação tardia. Esta depreciação limita o poder de conservação da castanha e, conseqüentemente, a sua venda para o consumo em fresco.

### 1.3.1. Qualidade para o mercado dos frescos

O mercado dos frescos requer castanha de grande calibre, em bom estado sanitário, com bom sabor, que se descasque e pele com facilidade. A taxa de perdas nas vendas deve ser inferior a 5%. Em geral, um lote de castanha é comercialmente reconhecido como de calibre grado, quando 45/60 frutos perfazem um kg, e de tamanho pequeno, quando aquela relação é de 80 frutos.

As castanhas têm que estar: inteiras, sãs, limpas, isentas de insetos vivos, qualquer que seja o seu estado de evolução, não germinadas e isentas de humidade exterior anormal e de odor e/ou de sabor estranhos. Em função destes atributos mínimos, as castanhas podem, então, ser classificadas em três categorias de qualidade: “Extra”, “I” e “II” como ilustra a tabela a seguir (Tabela 1.4).

O calibre mínimo é fixado em 125 frutos por kg e, a fim de apresentar uma certa homogeneidade, a diferença de peso entre os 10 frutos mais pequenos e os 10 maiores, na mesma amostra de 1 kg para cada embalagem, não deve ser superior a 80 gramas. O acondicionamento deve ser feito em embalagens limpas, adequadas de capacidades variáveis e devidamente rotuladas com as seguintes menções: nome e endereço do produtor/embalador, identificação da região de produção e da variedade, referência à categoria de qualidade e ao calibre do produto.

**Tabela 1.4.** Classificação da Qualidade da Castanha

<b>Categoria Extra</b>	<b>Categoria “I”</b>	<b>Categoria “II”</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>- Castanha de qualidade superior; bem desenvolvidas, forma normal, coloração uniforme e de aspeto fresco.</li><li>- Devem ser cuidadosamente escolhidas, estando isentas de defeitos, à exceção de algumas ligeiras alterações superficiais no pericarpo.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Castanhas de boa qualidade, bem desenvolvidas, forma normal e de aspeto fresco.</li><li>- Podem apresentar alguns defeitos, desde que estes não afetem o aspeto geral do produto, a sua qualidade, conservação e apresentação na embalagem.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Castanhas que não podem ser classificadas nas outras categorias, mas que apresentam as características mínimas de qualidade.</li><li>- Podem apresentar defeitos na forma, no desenvolvimento e na coloração, desde que conservem as suas características essenciais de qualidade, conservação e apresentação.</li></ul>
<p style="text-align: center;"><b><u>Tolerâncias</u></b></p> 6% por Kg de frutos com golpes superficiais.	<p style="text-align: center;"><b><u>Tolerâncias</u></b></p> 10% por kg de frutos com golpes superficiais ou com defeitos (lagartas mortas).	<p style="text-align: center;"><b><u>Tolerâncias</u></b></p> 15% por kg de frutos com golpes superficiais ou com defeitos (lagartas mortas).

Fonte: Norma OCDE/ONU - UNECE FFV-39

### **1.3.2. Qualidade para o mercado industrial**

Há que considerar dois mercados distintos da transformação da castanha. O da doçaria e o dos outros produtos derivados e subprodutos, sendo que o primeiro requer patamares superiores de qualidade para a castanha que processa. A indústria europeia da doçaria, nomeadamente em França e em Itália, orientada para um segmento de alimentos de luxo ou gourmet, para o fabrico do marron glacé e das conservas, exige frutos grandes, monospermicos (curtos, arredondados e sem septos), com elevada qualidade organolética de fácil despela e com bons rendimentos.

### **1.4. Fatores bióticos e abióticos que afetam a qualidade das castanhas em pré-colheita**

A qualidade das castanhas é influenciada por um conjunto alargado de fatores tanto ambientais como bioquímicos e biológicos. Com importância na qualidade destacam-se os métodos de produção, as condições ambientais durante a maturação dos frutos, os fatores genéticos relacionados com as características das variedades produzidas em cada região e ainda a presença de pragas e doenças (podridões) nas castanhas.

A fertilidade dos sotos influencia a qualidade das castanhas já que sotos com deficiente fertilização produzem castanhas malformadas e mais sensíveis aos ataques de pragas e fungos (Álvarez, 2010). O mesmo autor refere também que a falta de água, consequência de períodos de seca é também um fator importante para o aparecimento no mercado de castanhas com menor qualidade.

No momento da colheita a qualidade das castanhas pode também ser afetada pelo aparecimento de fungos. Na altura da colheita, o aparecimento de fungos é consequência de humidade excessiva que pode ocupar o espaço interior das castanhas quando estas não estão completamente desenvolvidas (Álvarez, 2010). Quando os fungos surgem no período pós-colheita, as infeções podem dever-se à falta de ventilação, ou calor excessivo no local de armazenamento. As primeiras castanhas a serem atacadas são aquelas que apresentam defeitos ou malformações, passando posteriormente as infeções para as outras castanhas (Álvarez, 2010). Também é muito frequente o desenvolvimento de fungos quando as castanhas são sujeitas a um processo de desidratação, em consequência do excesso de calor antes ou durante a colheita e posterior reidratação.

Neste trabalho serão estudados os aspetos relacionados com o estado sanitário das castanhas em pré-colheita, uma das causas, consideradas das mais importantes na redução da produção e da qualidade das castanhas.

#### 1.4.1. Principais pragas que afetam a castanha

A castanha é atacada por algumas pragas que depreciam o seu valor comercial e causam perdas no rendimento aos agricultores e comerciantes (Bento *et al.*, 2007; Ruocco *et al.*, 2016). Na região transmontana, o bichado-da-castanha, provocado pelo complexo de pragas *Laspeyresia* (= *Cydia*) *splendana* (Hübner), *Cydia fagiglandana* Zeller e *Pammene fasciana* L., e o gorgulho, *Curculio* (= *Balaninus*) *elephas* Gyllenhal são apontadas como sendo as principais pragas dos soutos e que maiores estragos podem provocar no fruto (Bento *et al.*, 2005).

#### 1.4.2. Bichado-da-castanha

O bichado-da-castanha é a principal praga que afeta a castanha. As castanhas infestadas com as larvas desta praga perdem todo o valor comercial, causando graves prejuízos na produção. O bichado-da-castanha está distribuído por toda a Europa, e tem como hospedeiro plantas de espécies de *Castanea*, *Quercus*, *Fagus* e *Juglans*, onde se alimentam no interior dos seus frutos. No sul da Europa, ataca principalmente as castanhas (Bogenschütz, 1991). A classificação taxonómica do Bichado-da-castanha encontra-se na Tabela 1.5.

**Tabela 1.5.** Classificação taxonómica do Bichado-da-castanha (*Cydia splendana*)

Taxonomia do bichado da castanha	
Ordem	Lepidoptera
Filo	Heteroneura
Divisão	Dytrisia
Familia	Tortricidae
Subfamilia:	Tortricoidea
Tribo	Grapholitini
Genero	Cydia Hübner
Espécie	Cydia splendana (Hübner)

Fonte: Bogenschütz, (1991)

Esta espécie é um lepidóptero da família *Tortricidae*, cujo adulto é uma borboleta com envergadura entre 14 e 18 mm. (Figura 1.2).

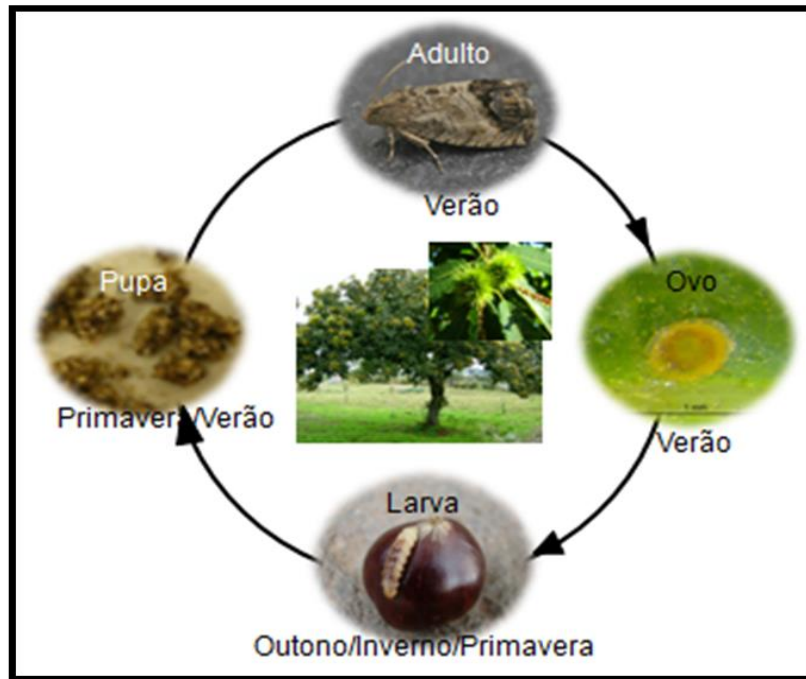


**Figura 1.2** – Bichado-da-castanha (*Cydia splendana*) larva, (à direita) e adulto (à esquerda). **Fonte:** *Cydia splendana* (Hübner, 2019)

As borboletas adultas voam ao final da tarde, entre agosto e outubro (Figura 1.3). Uns dias após a sua eclosão, as fêmeas depositam os ovos nas nervuras das folhas do castanheiro, junto aos ouriços. A postura leva 4 a 5 dias e cada fêmea pode pôr um máximo de 300 ovos (Lourenço *et al.*, 2016). Relativamente a esta praga, apenas uma larva eclode em cada fruto, independentemente do número de ovos postos (Bovey *et al.*, 1975). Duas a três semanas depois dá-se a eclosão das larvas, que se dirigem para os ouriços, abrindo orifícios nas castanhas e penetrando no seu interior. As larvas, no interior das castanhas, abrem galerias à medida que se vão alimentando deste fruto (Lourenço *et al.*, 2016). Esta espécie, como outras espécies de bichado, apenas tem uma geração por ano, ou seja, é uma espécie univoltina.

As larvas quando completamente desenvolvidas abandonam as castanhas e enterram-se no solo a profundidades variáveis, que podem atingir os 15 cm. Nesta fase, as larvas formam casulos constituídos por pequenas partículas de terra ligadas por fios de seda. Os casulos podem também ser encontrados junto ao solo entre detritos orgânicos. As larvas passam o Inverno nestes casulos, pupando no início do mês de junho, formando crisálidas, e em finais de julho emergem as borboletas (Lourenço *et al.*, 2016).





**Figura 1.3** – Ciclo biológico de *Cydia splendana* (Fonte: Rosalina Marrão)

Os fatores que influenciam os níveis de ataque de *C. splendana* são pouco conhecidos. A suscetibilidade à praga parece estar relacionada com vários fatores entre os quais se destacam, como mais importantes, a variedade de castanheiro, a presença de hospedeiros secundários, a densidade das diversas espécies de parasitoides e o clima (Pombo e Aguiar, 2018).

### 1.4.3. Gorgulho-da-castanha

A Classificação taxonómica do Gorgulho-da-castanha está indicada na Tabela 1.6.

**Tabela 1.6.** Classificação taxonómica do Gorgulho-da-castanha (*Curculio elephas*)

TAXONOMIA DO GORGULHO-DA-CASTANHA	
Ordem	Coleoptera
Filo	Polyphaga
Divisão	Symphiogastra
Família	Curculionidea
Subfamília	Curculionídea
Tribo	Balanini
Género	Balaninus
Espécie	Curculio elephas (Gyll.)

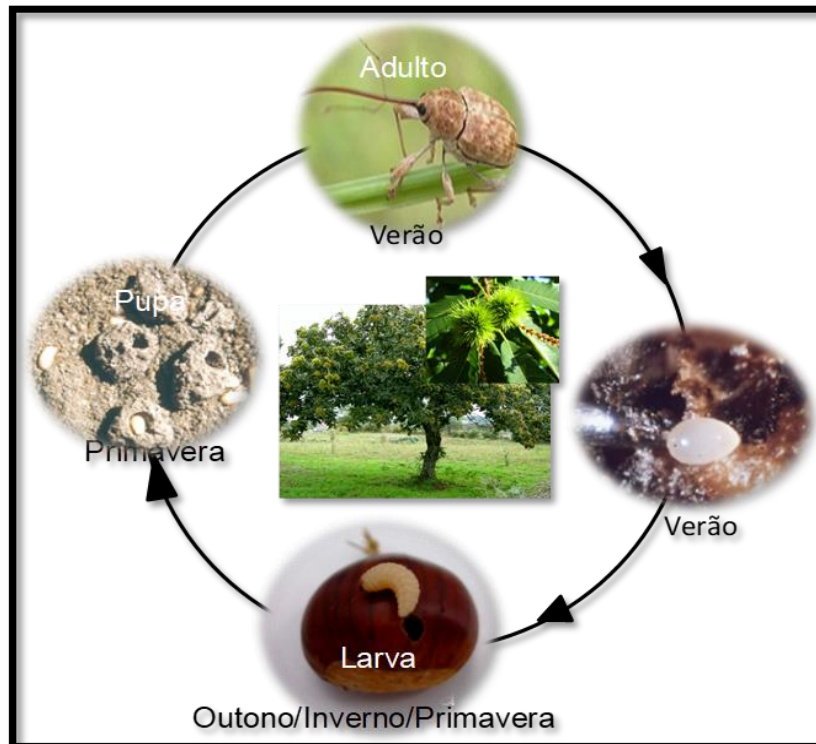
**Fonte:** Hoffman *et al.* (1963)

Esta espécie é um coleóptero da família *Curculionidae* com uma só geração anual. O adulto mede de 6 a 10 mm de comprimento e é de cor castanho-amarelado (Coutinho, 1995) (Figura 1.4). Este inseto ataca diversas folhosas, em particular o castanheiro o sobreiro a azinheira o carvalho negral e o carvalho português.

Os adultos do Gorgulho-da-castanha emergem no solo em agosto e setembro (Figura 1.5) e as fêmeas colocam os ovos no solo, onde as larvas se alimentam da castanha durante cerca de 2 meses (Rigotti *et al.*, 2000) A fêmea usa o longo rostro para perfurar a casca e o tegumento da castanha, pondo ovos dentro dela. Neste caso, podem eclodir mais que uma larva de gorgulho em cada castanha, devido à falta de competição entre elas, originando múltiplos orifícios de saída (Conedera *et al.*, 2004). As larvas vão escavando galerias nas castanhas e vão enchendo essas galerias com excrementos. A castanha vai permanecendo com uma aparência saudável até o momento da saída das larvas, através de um orifício característico de 4-5 mm de diâmetro. As larvas maduras passam o inverno a uma profundidade variando de 10 a 70 cm no solo (Rigotti *et al.*, 2000). O orifício de saída de larvas do gorgulho-da-castanha distingue-se do orifício de saída de larvas do bichado-da-castanha pelo seu maior tamanho (Coutinho, 1995).



**Figura 1.4.** Gorgulho-da-castanha, *Curculio* (= *Balaninus*) *elephas* Gyllenhal. Larva (à esquerda) e adulto (*Curculio elephas*) (à direita). **Fonte:** A gazeta da beira (2013)



**Figura 1.5.** Ciclo biológico de *Curculio elephas* Gyllenhal (Fonte Rosalina Marrão).

A predisposição aos ataques é maior em plantas debilitadas, sendo favoráveis os anos secos e quentes. Os ataques desta praga são mais intensos em anos de baixa produção após anos de grande abundância. As cultivares com ouriços providos de escassos espinhos são mais suscetíveis que as que têm ouriços com densa cobertura de espinhos.

O estrago causado por gorgulho-da-castanha é devido à principal atividade trófica da sua larva, que se alimenta durante o seu desenvolvimento dentro dos frutos (Soria *et al.*, 1995); isso pode vir a causar a diminuição da capacidade germinativa das sementes e também a perda do tamanho, o peso e a queda precoce dos frutos.

### **1.5. Meios de luta das principais pragas da castanha**

Em Portugal, podem ser preconizados alguns meios de luta (química, biológica e cultural), apesar do reduzido número de alternativas disponíveis para o controlo das populações de pragas e doenças. A tomada de decisão relativa à intervenção deve ser suportada pelo grau de perigosidade verificado (Sousa *et al.*, 2007).

### **1.5.1. Luta Cultural**

Esta é uma das medidas de luta muito importante visto que outros meios não são disponíveis ou não são possíveis na prática. Os meios de luta cultural utilizados têm como objetivo o abaixamento das populações das pragas nos sotos, e a destruição pode ser feita através de enterramento, queima ou através da aplicação de produto fitofarmacêutico autorizado (com utilização de inseticida coberto com plástico ou utilização de rede inseticida). Depois da colheita as castanhas devem ser armazenadas em locais cimentados de modo que as larvas na medida que vão saindo, elas não tenham forma de se enterrar no solo ou na terra para não completarem o seu ciclo de vida (Rotundo e Giacometti, 1986).

### **1.5.2. Luta Química**

A luta química pode, por vezes, ser extremamente eficaz no controlo de pragas e doenças, quando se tem um conhecimento rigoroso da biologia e ciclo de vida do agente a combater, devendo usar-se os produtos fitofarmacêuticos autorizados para a cultura do castanheiro pela entidade competente (DGAV, 2019).

### **1.5.3. Luta Biológica**

Em relação a luta biológica refere-se que os pesticidas como o *Bacillus thuringiensis* que são eficazes no combate do bichado-da-castanha não apresentando impactos ambientais e baseia-se em técnicas que condicionam e manipulam o comportamento do agente (Rotundo e Giacometti, 1986)

## **1.6. Fungos associados a podridões das castanhas em pré-colheita, durante a colheita e em armazenamento**

Os fungos provocam podridões que infetam as castanhas durante o desenvolvimento do fruto, ainda antes da colheita, porque muitos fungos estão presentes nos castanheiros devido ao seu comportamento endofítico, como é o caso da podridão castanha causada por *Phomopsis castanea* Sacc (Donis-González, 2008). A infeção por fungos pode ainda ocorrer pela presença de orifícios causados pelo desenvolvimento larvar das pragas que atacam a castanha (Wells e Payne, 1980) quando ainda presentes na árvore, ou após a queda dos ouriços e antes da colheita manual ou mecânica da castanha.

A queda dos ouriços ocorre normalmente durante as chuvas de outono, entre outubro e novembro. A apanha da castanha por vezes é demorada, e as castanhas estão, em algumas situações, demasiado tempo em contacto com o solo, expostas a fatores bióticos (ex: fungos e insetos) e abióticos (humidade e temperatura favorável ao desenvolvimento dos fungos).

A infeção das castanhas por agentes microbiológicos de deterioração geralmente ocorre depois das castanhas caírem no chão e ficarem em contato com o solo, matéria vegetal e humidade (Mencarelli, 2001). Segundo Moscetti *et al.* (2014) quando a apanha da castanha ocorre durante períodos de chuva, os danos provocados por fungos podem chegar aos 30% do total da colheita.

Segundo Conedera *et al.* (2004) e Donis-González (2008) o fungo que mais estragos causa em castanhas é *Sclerotinia pseudotuberosa* Rehm (Sinónimo: *Ciboria batschiana* Zopf., *Sclerotinia batschiana*; anamorfo de *Rhacodiella castanea*, sin. *Myrioconium castanea*), responsável pela podridão negra das castanhas. As infeções provocadas por este fungo geralmente ocorrem quando os frutos caem ao chão e rapidamente são contaminados com ascósporos produzidos pelo fungo que se encontram no solo. No entanto, alguns autores (Delatour e Morelet, 1979; Vettraino *et al.*, 2005) identificaram o fungo na árvore sugerindo que este pode sobreviver como endofítico, infetando as castanhas durante o seu desenvolvimento, antes de ocorrer a queda dos ouriços.

A podridão provocada pelos fungos endofíticos, *Phoma castanea* e *Phoma endogena* Speg. (Conedra *et al.*, 2004) é muito comum em castanhas e pode levar a mumificação dos frutos. A intensidade do ataque destes fungos deve-se, em parte, à sensibilidade varie tal sendo os ataques mais intensos quando o fruto se desenvolve em condições de temperaturas acima dos valores considerados normais. A doença pode aparecer nos frutos que se encontram em armazenamento, mas a infeção ocorreu naturalmente no campo (Washington *et al.*, 1998).

No período pós-colheita, durante o armazenamento e processamento, a castanha pode estar sujeita a diferentes contaminações. Os principais fatores na depreciação pós-colheita são as podridões causadas por fungos e muitas vezes associados à presença e desenvolvimento larvar dos insetos (Wells e Payne, 1980; Bassi *et al.*, 2001). Enquanto alguns fungos infetam a castanha nas várias fases de desenvolvimento dos frutos, outros

fungos têm um grande incremento de crescimento durante o armazenamento (Jermini *et al.*, 2006; Sieber *et al.*, 2007). A nível mundial, os diferentes fungos que atacam as castanhas durante o período de armazenamento são *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *P. castanea*, *Acrospeira mirabilis* e *S. pseudotuberosa* (Donis-Gonzáles *et al.*, 2012) O fungo *Gnomoniopsis castanea* sp. nov., tem sido descrito, nos últimos anos, como o agente causal de podridões da castanha em pós-colheita, em algumas regiões de Itália, provocando elevadas perdas de rendimento na produção de castanha (Visentini *et al.*, 2012). Os mesmos autores referem que a sintomatologia causada por *G. castanea* é muito parecida com a sintomatologia causada por *P. endogena*, pelo que as podridões foram associadas a este fungo.

Estudos realizados em Portugal revelam um elevado número de espécies de fungos com capacidade de se desenvolverem em armazenamento (Coelho e Gouveia, 2017) (Figura 1.6 e Tabela 1.7) e que evidenciam a importância de se adotarem medidas adequadas para prevenir contaminações durante o período de desenvolvimento do fruto ainda no souto, na época de colheita e durante o armazenamento.



**Figura 1.6.** Castanhas com sintomas de podridão em armazenamento (Coelho e Gouveia, 2017).

A contaminação da castanha por fungos pode levar a perdas económicas substanciais, para a produção, processadores e distribuidores de castanha. Além disso, a presença das infeções fúngicas é também importante devido ao potencial risco de desenvolvimento de micotoxinas (Tallada *et al.*, 2011).

Existe pouca investigação sobre as medidas de controlo dos fungos que causam podridão em castanhas no campo. No entanto, alguns estudos referem que a captana, o dodine mostraram capacidade de controlar o fungo *P. castanea in vitro* (Montealegre, 1984). Washington *et al.* (1998) verificou também, na Austrália, que algumas substâncias ativas como o benomil ou o propiconazole mostraram capacidade de inibição do crescimento micelial.

**Tabela 1.7.** Espécies de fungos identificadas em castanhas durante o armazenamento (Coelho e Gouveia, 2017).

Espécies identificadas	Percentagem (%) de isolados
Penicillium sp.	17,1
Rizhopus sp.	42,1
Botrytis cinera	15,0
Gnomoniopsis smithogilvyi	9,3
Coniella fragariae	0,7
Alternaria sp.	0,7
Mucor racemosus	1,4
Fungos não identificados	13,7

Em pós-colheita, Ruocco *et al.* (2016), verificaram que a utilização de uma mistura de enzimas provenientes da fermentação de micélio de *Trichoderma harzianum*, usadas na água de lavagem, resultou numa significativa redução de podridões da castanha durante o armazenamento.

Em Portugal não existem substâncias ativas homologadas para controlar os fungos que se desenvolvem em castanhas (DGAV, 2019), e os tratamentos pós-colheita baseiam-se, geralmente, no tratamento das castanhas por imersão em água corrente (hidroterapia em água corrente) ou quente (hidroterapia quente ou termohidroterapia), antes de se colocarem em armazenamento em condições de frio.

Os meios de luta para o controlo de pragas e doenças da castanha são de um modo geral escassos, e muitas das substâncias ativas não estão homologadas para a cultura, pelo que será necessário adotar medidas de prevenção quer nos soutos, prevenindo o

ataque de insetos, quer durante o armazenamento e o processamento da castanha de modo a minimizar os estragos causados pelas pragas e fungos que atacam a castanha.

### **1.7. Tratamento de castanha em pós-colheita e o seu armazenamento**

As castanhas passam por diversos processos e tratamento de pós - colheita e armazenamento tais como: o banho com água corrente, água morna e imersão simples e também são usados alguns produtos químicos como um dos métodos de tratamento (Tabela 1.8). Esses métodos são usados para se obter a castanha de melhor qualidade, para o consumo em fresco e comercialização. Na Europa ainda se usa muito o método tradicional para o tratamento e armazenamento de castanha que é a cura com água, onde as castanhas são mergulhadas em água durante alguns dias para diminuir ou reduzir a podridão e matar as larvas no interior das castanhas (Mencarelli, 2001; Botondi *et al.* 2009). Estes tratamentos devem ser eficazes, mas também devem ser seguros e acessíveis para serem aplicados no tratamento ou lavagem das castanhas. Espera-se que as técnicas inovadoras, como irradiação das castanhas, e os tratamentos térmicos, que podem ser capazes de reduzir os organismos patogénicos e outros microrganismos (tratamentos por pasteurização), possam trazer grandes melhorias na qualidade microbiológica e segurança do produto (Niemira, 2003). A utilização destes novos produtos vem no sentido de melhorar e garantir um produto de boa qualidade no mercado da exportação da castanha (Anelli *et al.*, 2006).



**Tabela 1.8.** Tratamentos das castanhas após a colheita

Tratamentos	Descrição dos métodos	Fonte
Imersão em água fria	É um processo que permite por um lado, uma primeira separação por flutuação de castanhas. Os melhores resultados estão relacionados com as castanhas recolhidas 24 a 48 horas após a queda natural dos frutos do castanheiro, neste caso permite a eliminação dos frutos deformados, podres e com pragas. Portanto, as castanhas perdem o seu brilho natural, este método pode não inibir, completamente o desenvolvimento das pragas	Conedera, <i>et al.</i> , (2005).
Imersão em água quente	O tratamento com a água quente as larvas mais desenvolvidas são eliminadas e as larvas em estado inferior de desenvolvimento são imediatamente asfixiadas.	Conedera, <i>et al.</i> , (2005).
Ozono (O <sub>3</sub> )	Ao aplicar este tratamento, ele vai inibir o desenvolvimento microbiano a prevenção e a deterioração por fungos, vai destruir os resíduos químicos presentes e controlar as pragas durante o armazenamento das castanhas. Tem um odor muito desagradável e irritante para olhos e garganta.	(Oztekin <i>et al.</i> , 2006; Zorlugenç <i>et al.</i> , 2008) e (Kells <i>et al.</i> , 2001; Suslow, 1998).
Cloro (hipoclorito de sódio)	Especificado para aplicações específicas, geralmente entre 50 a 200 ppm, mas pode ser usado até 20.000 ppm para sementes, Desinfestações de insetos e parasitas reduzir pós-colheita, novos produtos ainda em experimentação	Mills <i>et al.</i> , 2004; Siomos <i>et al.</i> , 2005; Soto-Zamora and Yahia, 2005
Radiação	Este tratamento pode influenciar mais a qualidade nutricional do que qualquer uma das radiações e doses utilizadas, pois a utilização deste tratamento verificaram-se alterações significativas após 30 e 60 dias de armazenamento, deu para perceber que a radiação pode ser bastante eficaz no tratamento pós - colheita da castanha e não altera significativamente os parâmetros nutricionais	António, <i>et al.</i> , (2012)

## **CAPÍTULO 2**

### **OBJETIVOS**

## **2.1. Objetivo geral**

As pragas e fungos da castanha causam perdas no rendimento aos agricultores, distribuidores e comerciantes. Para promover as melhores práticas, quer durante a produção de castanha quer no período de colheita e pós-colheita, de modo a garantir a qualidade das castanhas, é importante conhecer as pragas que atacam as castanhas e os fungos associados com as podridões da castanha. O trabalho tem por objetivo geral, avaliar os fatores pré-colheita que determinam a qualidade final (comercial) da castanha.

## **2.2. Objetivos específicos**

Para concretizar este objetivo geral foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar o estado sanitário das castanhas;
- Avaliar os estragos associados com as pragas que atacam a castanha e estão presentes no período de colheita;
- Avaliar a presença de podridões nas castanhas que se desenvolvem durante o crescimento dos frutos;
- Avaliar as condições que promovem podridões nas castanhas durante o período de colheita;
- Avaliar o desenvolvimento das podridões das castanhas durante o período de armazenamento;
- Propor medidas de melhoria da qualidade da castanha durante o processo produtivo, processamento e armazenamento.

## **CAPÍTULO 3**

### **MATERIAL E MÉTODOS**

### 3.1. Amostragem

#### 3.1.1. Locais de amostragem

Para a avaliação da qualidade das castanhas foram selecionados, em novembro de 2018, cinco soutos na região de Trás-os-Montes, Espinhosela, Parâmio e Samil (concelho de Bragança), Espinhoso (concelho de Vinhais), Sobrado (concelho de Valpaços) (Tabela 3.1, Figura 3.1).

**Tabela 3.1.** Locais de amostragem (recolha de amostras)

Concelho	Local	Latitude (N)	Longitude (w)	Altitude (m)	Variedade
Bragança	Espinhosela	41°52'16.05"	6°49'19.12"	923	Longal
Vinhais	Espinhoso	41°49'43.53"	7°05'07.33"	840	Judia
Bragança	Parâmio	41°53'56.54"	6°52'55.81"	905	Longal
Bragança	Samil	41°46'52.14"	6°45'54.97"	797	Longal
Valpaços	Sobrado	41°34'24.03"	7°27'53.93"	795	Judia



**Figura 3.1.** Souto de Espinhosela no concelho de Bragança

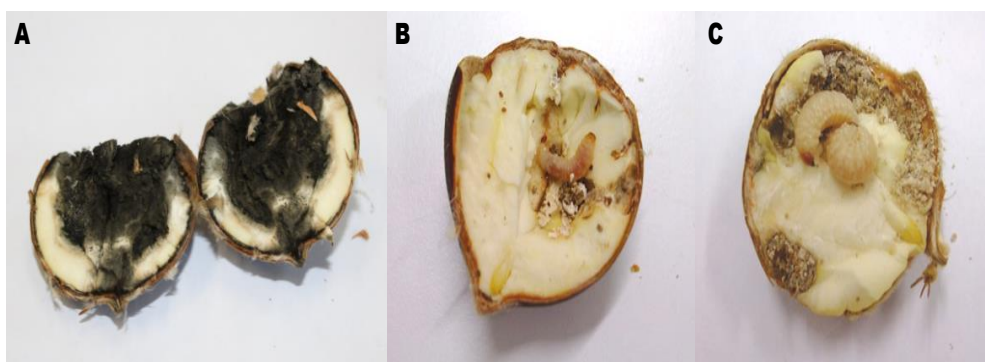
### 3.2. Recolha das amostras e processamento das castanhas em laboratório

Em cada souto recolheu-se manualmente do chão 300 castanhas, na altura da colheita. As árvores, em cada um dos locais, foram aleatoriamente selecionadas. As

amostras foram transportadas para laboratório devidamente individualizadas por souto. As castanhas de cada souto foram divididas em seis sacos diferentes, contendo 50 castanhas cada saco.

### 3.3. Avaliação do estado sanitário das castanhas

Para avaliar o estado sanitário das castanhas provenientes dos diferentes soutos, as castanhas de cada lote foram abertas com um canivete e contabilizado o número de castanhas com presença de larvas de bichado-da-castanha (*Cydia splendana* Hb.) ou gorgulho (*Curculio elephas* Gyll.) e foi verificada a presença de podridões (Figura 3.2).



**Figura 3.2.** Castanhas atacadas por fungos (A), castanhas atacadas por bichado-da-castanha (B) e castanhas atacadas por Gorgulho-da-castanha (C). (Fonte: Rosalina Marrão)

#### 3.3.1. Identificação das pragas das castanhas

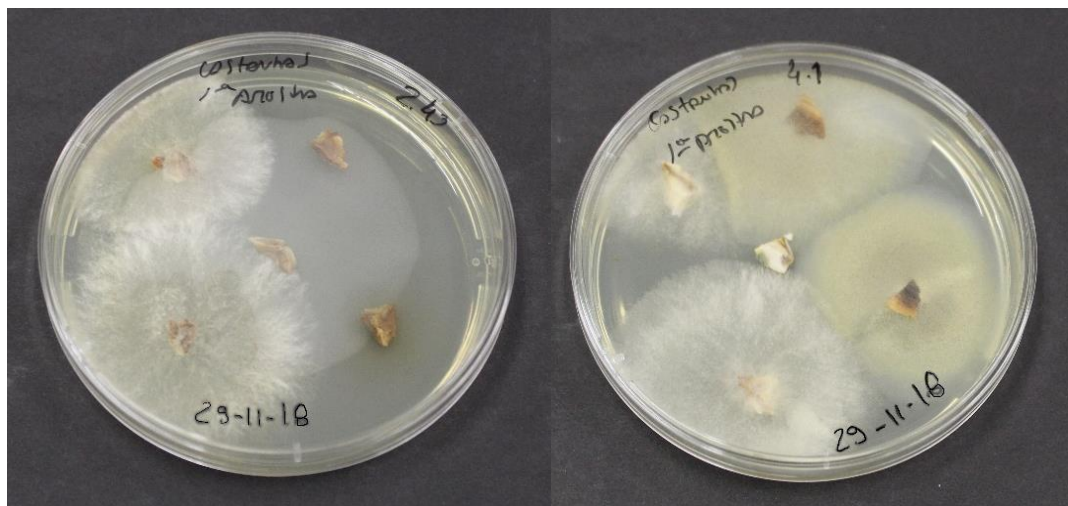
Para a identificação das pragas presentes nas castanhas as larvas foram observadas visualmente. As larvas que evidenciavam ausência de patas e falsas patas, de cor amarela com o tórax e a cabeça de cor castanha, geralmente curvadas com cerca de 15 mm de comprimento foram identificadas como larvas de gorgulho (*Curculio elephas* Gyll). As larvas com cabeça de cor castanho claro, os escudos protorácicos e anal amarelados e de corpo branco foram identificadas como de larvas de bichado-da-castanha (*Cydia splendana* Hb.).

#### 3.3.2. Pesquisa dos fungos associados com as podridões da castanha

##### 3.3.2.1. Isolamento dos fungos

Para o isolamento do fungo nas castanhas com sintomas de podridão foram observadas as características morfológicas e com a ajuda de um bisturi cortaram-se

cinco troços (2x2 mm) de cotilédone ou do revestimento do cotilédone infetado. Os troços de castanha foram imersos em álcool 70% (v/v) durante aproximadamente 2 minutos. Passado esse tempo eram retirados com ajuda de uma pinça e colocados e papel absorvente para retirar o excesso de álcool. Os troços de castanha foram colocados em placas Petri de 90 mm de diâmetro contendo meio de cultura PDA (Potato Dextrose Agar, 39 gr/L) para isolamento do fungo de modo a obter uma cultura pura de cada isolamento (Figura 3.3).



**Figura 3.3.** Isolados de fungos a crescer em meio PDA

### **3.3.2.2. Armazenamento e conservação dos isolados dos fungos**

As culturas puras foram preservadas e mantidas a 4 °C, sendo posteriormente depositadas na coleção de fungos do Laboratório de Sanidade Vegetal do Instituto Politécnico de Bragança. Os fungos foram guardados em tubos inclinados com 15 ml de meio de cultura PDA e em frascos de boca estreita de 15 ml (Polypropylene Narrow Mouth Bottle, VWR) contendo água destilada.

### **3.3.2.3. Identificação molecular das espécies de fungos**

#### **3.3.2.3. 1. Crescimento dos isolados em meio de cultura**

Para a obtenção de micélio para extração do DNA, os isolados selecionados foram repicados previamente para placas de Petri contendo meio de cultura PDA. Os isolados foram colocados a 25 °C, durante 5 dias para crescimento micelial.

### **3.3.2.3.2. Extração do DNA**

A extração do DNA dos fungos isolados foi realizada utilizando o kit REDExtract-N-Amp™ Tissue PCR Kit, (Sigma-Aldrich). Para a extração do DNA recolheram-se cerca de 10 mg de micélio para tubos PCR e macerou-se o micélio com a ponta da pipeta durante alguns segundos. Após maceração adicionou-se um tampão de lise e colocou-se a incubar a 95 °C durante 10 minutos. Após incubação foi adicionado um tampão de diluição.

### **3.3.2.3.3 PCR e eletroforese**

A amplificação e sequenciação da região ITS do ADN ribossomal (ADNr) foi realizada por PCR utilizando indicadores oligonucleotídicos universais ITS1 e ITS4 (White *et al.*, 1990). Os produtos de PCR obtidos foram visualizados num gel de agarose (1,5%) em 60 ml de TAE 1%, adicionando GelRed Nucleic Acid Strain (1µl por cada 60 ml de TAE) a 70V durante 1 hora. O DNA foi visualizado por UV com um sistema de vídeo Eagle Eye II Video System.

### **3.2.3.3.4. Identificação das espécies**

Para identificar os fungos, os produtos PCR foram enviados para os Laboratórios Stab Vida (Caparica, Portugal) e comparou-se cada sequência através do GenBank: BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) com sequências depositadas na base de dados NCBI (National Center for Biotechnology Information). Cada espécie foi classificada de acordo com o Index Fungorum Database ([www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org)).

### **3.2.4. Abundância relativa**

A abundância relativa foi determinada como o número total de isolados de um determinado táxon dividido pelo número total de isolados de todos os táxons.

### **3.2.5. Comportamento biológico dos diferentes fungos**

O comportamento biológico dos diferentes fungos foi determinado por pesquisa bibliográfica.



### 3.3. Tratamento pós-colheita

No laboratório, 3 sacos (lotes) de cada soute foram sujeitos a uma lavagem por imersão em água fria, deixando as castanhas em água durante 10 minutos. Nos outros 3 sacos (lotes) não foi efetuado qualquer tratamento (sem tratamento) (Figura 3.4). Todos os lotes de castanha foram colocadas a 12°C numa estufa de incubação com refrigeração (Cooled Incubator (ST) ST2; POL-EKO APARATURA) (Figura 3.5).



**Figura 3.4.** Lote de castanhas lavadas (à esquerda) e lote de castanhas sem tratamento (sem lavar) (à direita)



**Figura 3.5.** Incubadora de refrigeração

A primeira observação das castanhas foi realizada imediatamente após a colheita (sem colocação na incubadora de refrigeração – T0). Um mês após a colheita (um mês na incubadora de refrigeração a 12°C – T1) foi realizada a segunda avaliação e a terceira avaliação foi realizada dois meses após a colheita (dois meses na incubadora de refrigeração a 12°C – T2).

No final de cada tempo de conservação, as castanhas foram abertas com um canivete e em cada lote foi contabilizado o número de castanhas com presença de larvas de bichado-da-castanha (*Cydia splendana* Hb.) ou gorgulho (*Curculio elephas* Gyll.) e foi verificada a presença de podridões conforme descrito anteriormente.

### **3.4. Avaliação de parâmetros físicos e fisiológicos em diferentes tempos de conservação**

#### **3.4.1. Perda de peso**

Para determinar a perda de peso das castanhas em cada lote, nos diferentes tempos de conservação (T0, T1 e T2), todos os lotes (50 castanhas) foram pesados antes de se fazer a avaliação do estado sanitário das castanhas. As castanhas foram pesadas numa balança digital (LP-4202i, VWR) e foi calculado o peso em cada lote (Figura 3.6).



**Figura 3.6.** Pesagem das castanhas

#### **3.4.2. Humidade**

Em cada lote e em cada tempo de conservação (T0, T1 e T2), foram selecionadas 10 castanhas sãs, avaliadas anteriormente, para determinar o teor de humidade. As castanhas foram pesadas inicialmente numa balança digital (LP-4202i, VWR) e o peso seco (gramas) de cada lote de castanhas foi determinado após secagem das castanhas numa estufa a 60°C até se obter peso constante. A percentagem de humidade foi

calculada pela razão entre o peso seco de cada lote e o peso fresco (% humidade = peso seco/peso fresco\*100).

### **3.4.3. Alteração de cor e germinação**

Para o estudar estes parâmetros foram recolhidos à parte dois lotes de 50 castanhas cada em Espinhosela e Samil (concelho de Bragança) na mesma altura em que se procedeu à recolha dos outros lotes já mencionados. As castanhas foram avaliadas ao fim de três meses após conservação em incubadora de refrigeração a 12°C. Neste estudo as castanhas foram avaliadas relativamente á alteração de cor ao nível do epicarpo (casca) e foi calculado a percentagem de castanhas que apresentaram germinação.

### **3.5. Análise estatística**

Para proceder ao tratamento estatístico dos dados obtidos, recorreu-se ao programa IBM-SPSS statistics, version 19 (SPSS Inc, 2010). Os dados foram avaliados quanto à normalidade e homogeneidade das variações com o teste de Kolmogorov – Smirnov. A análise de variância (ANOVA) e o teste de diferença significativa de Tukey (HSD) ( $p < 0,05$ ) foram utilizados para comparar as médias entre diferentes tratamentos ( $p < 0,05$ ).

## **CAPÍTULO 4**

### **RESULTADOS**

## 4.1. Parâmetros Físicos

### 4.1.1 Peso médio das castanhas na colheita

Em cada lugar de estudo, seis lotes com 50 castanhas recém-colhidas, foram pesados antes de serem submetidos aos seguintes tratamentos: 1 - imersão em água fria e 2 - sem passar por água (sem tratamento).

O peso médio (gramas) de 50 castanhas nos diferentes locais de estudo encontra-se na Tabela 4.1. As castanhas provenientes de Sobrado apresentaram o peso médio mais elevado, 721,15 ( $\pm 59,57$ ) (média $\pm$ desvio padrão) gr seguido das castanhas provenientes de Espinhoso com 559,49 ( $\pm 16,54$ ) gr. O menor peso médio foi registado em Samil 294,66 ( $\pm 10,96$ ) gr.

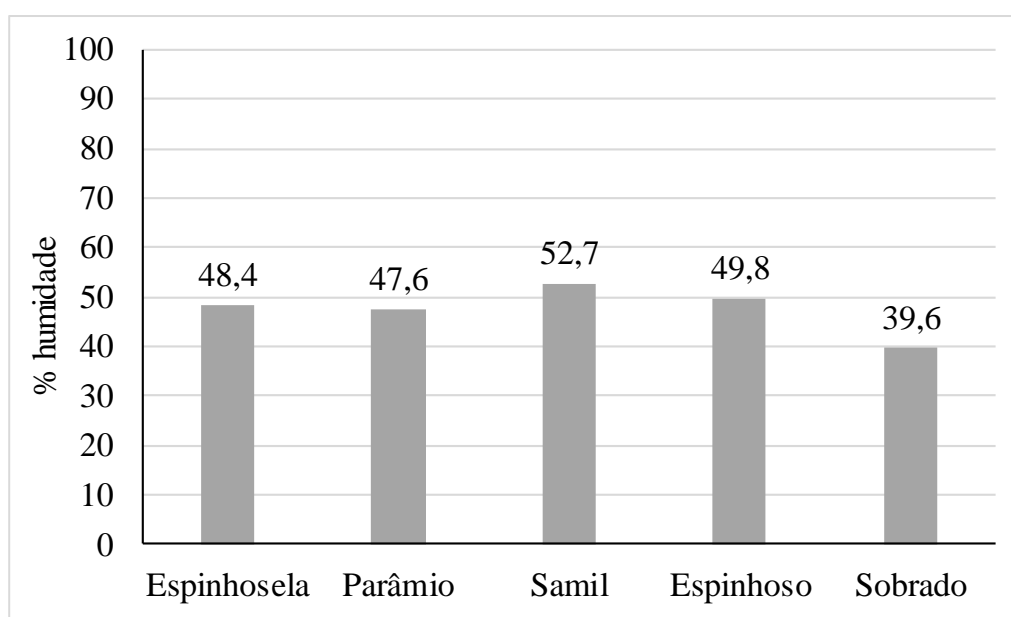
**Tabela 4.1.** Peso médio de 50 castanhas nos locais estudados (Espinhosela, Parâmio, Samil, Espinhoso e Sobrado) (média $\pm$ desvio padrão).

Local	Variedade	Peso médio de 50 castanhas	Número de castanhas por kg
Espinhosela	Longal	516,09 $\pm$ 17,27	97
Espinhoso	Judia	559,49 $\pm$ 16,54	90
Samil	Longal	294,66 $\pm$ 10,96	170
Sobrado	Judia	721,15 $\pm$ 59,57	70
Parâmio	Longal	518,07 $\pm$ 53,30	97

O peso médio mais alto registado em Sobrado (concelho de Valpaços) resulta de neste lugar predominar a variedade Judia, considerada uma variedade com frutos de grande calibre (50-70 frutos/kg) (Matos, 2003). Em Samil (concelho de Bragança) foi registado o peso médio mais baixo. Neste lugar, onde predomina a variedade Longal de calibre pequeno a médio (90-100 frutos/Kg) (Matos, 2003) o peso médio de 50 castanhas é inferior ao registado em Espinhosela e Parâmio (concelho de Bragança) onde esta variedade também está presente. Em Espinhoso (concelho de Vinhais) apesar das castanhas serem provenientes da variedade Judia, o peso médio das castanhas aproximou-se mais dos valores obtidos para a variedade Longal.

#### 4.1.2. Teor de humidade das castanhas na colheita

A percentagem de humidade das castanhas na altura da colheita nos diferentes soutos em estudo, variou entre 39,6% em Sobrado e 52,7% em Samil (Figura 4.1). Os valores de humidade apresentados sugerem que a água representa cerca de 50% do peso das castanhas, com exceção das castanhas colhidas em Sobrado onde este valor rondou os 40%.



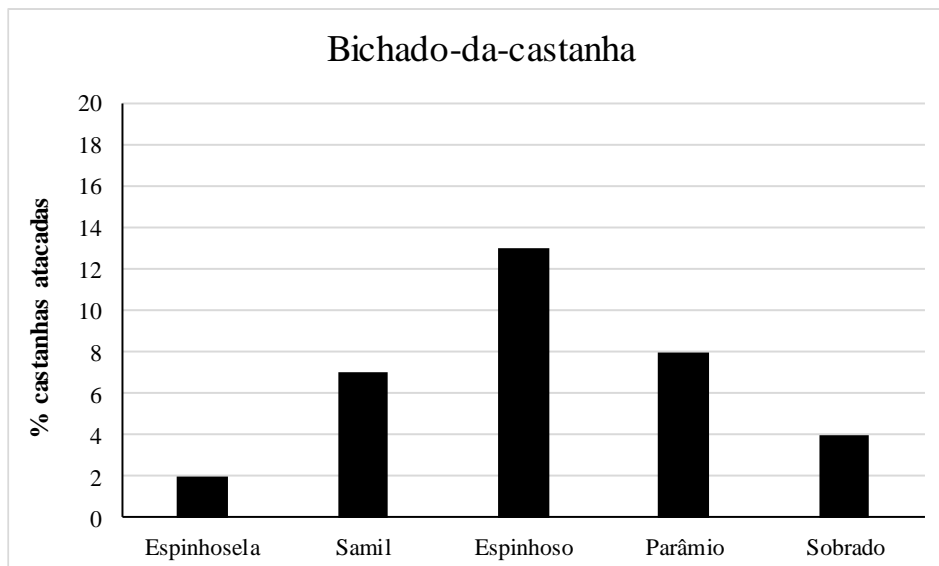
**Figura 4.1.** Teor de humidade (%) das castanhas dos diferentes soutos em estudo, na altura da colheita

#### 4.2. Estado sanitário das castanhas na colheita

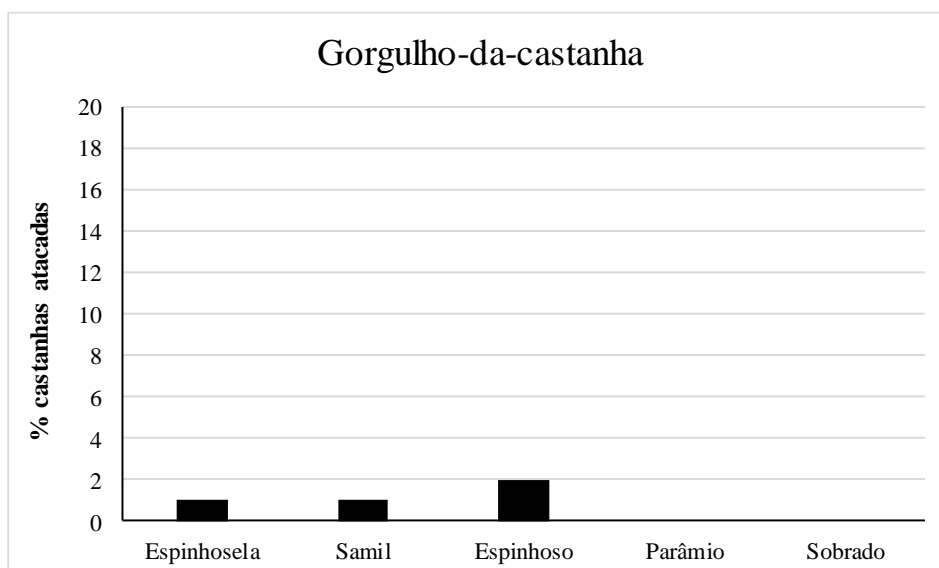
##### 4.2.1 Pragas da castanha

O Bichado-da-castanha esteve presente em todos os locais onde foi feita a amostragem para este estudo. A percentagem de castanhas atacadas por esta praga variou de 2,0% em Espinhosela e 13% em Espinhoso (Figura 4.2).

O Gorgulho-da-castanha foi identificado em três soutos (Espinhosela, Samil e Espinhoso). Dois locais (Parâmio e Sobrado) não apresentaram castanhas atacadas por esta praga. A percentagem de castanhas atacadas por esta praga foi muito reduzida, tendo variado nos diferentes locais entre 1,0% e 2,0% (Figura 4.3).



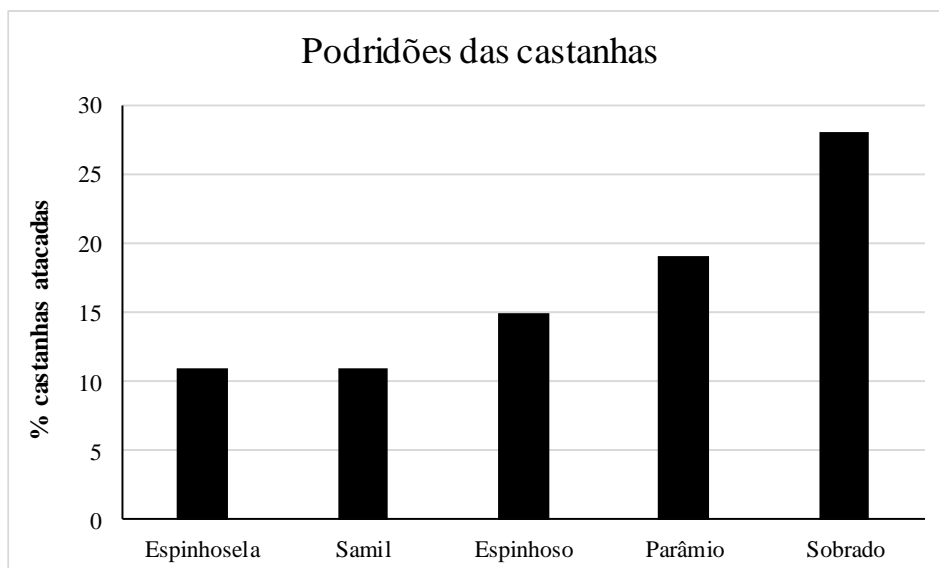
**Figura 4.2.** Percentagem de castanhas atacadas por Bichado-da-castanha nos diferentes locais (Espinhosela, Samil, Espinhoso, Parâmio e Sobrado).



**Figura 4.3.** Percentagem de castanhas atacadas por Gorgulho-da-castanha nos diferentes locais (Espinhosela, Samil, Espinhoso, Parâmio e Sobrado).

#### 4.2.2. Podridões das castanhas

Todos os locais apresentaram castanhas com sintomas de podridão. A percentagem de castanhas com sintomas de podridão causada por fungos na altura da colheita variou entre 11,0% em Espinhosela e Samil e 28,0% em Sobrado (Figura 4.4).



**Figura 4.4.** Percentagem de castanhas com sintomas de podridão nos diferentes locais (Espinhosela, Samil, Espinhoso, Parâmio e Sobrado).

### 4.3. Fungos associados com as podridões

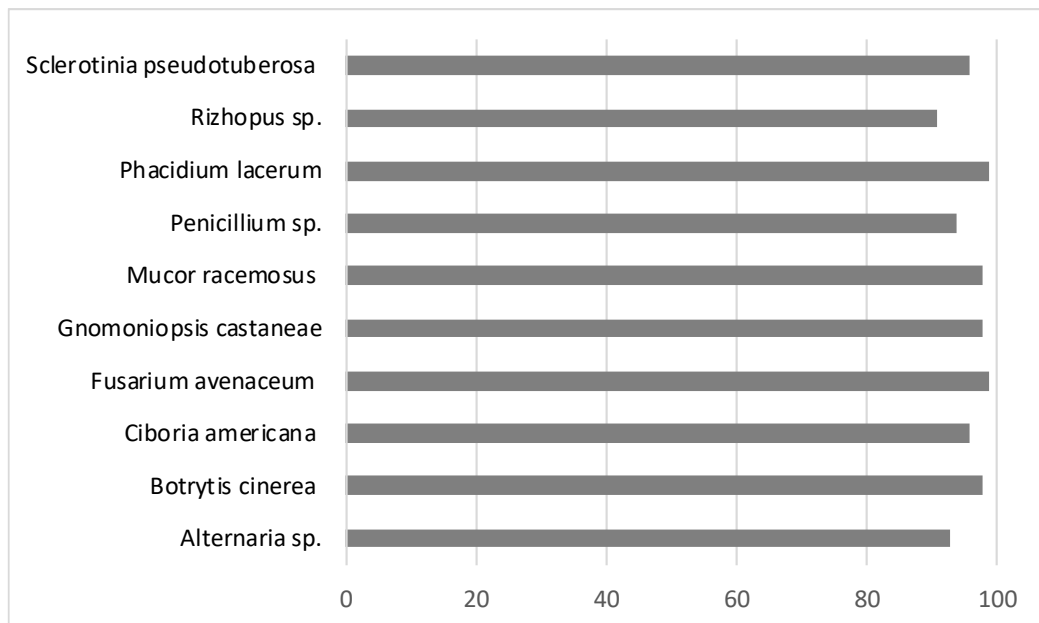
Neste estudo foram obtidos 111 isolados de microfungos a partir das castanhas com sintomas, tendo sido identificadas 10 espécies no total dos isolados estudados (Tabela 4.5).

A identificação molecular dos isolados baseou-se na sequenciação dos produtos amplificados por PCR com o ITS1 e ITS4 e comparados com as sequências depositadas nas bases de dados do GenBank mediante uma análise Blast. As sequências obtidas apresentaram entre 91% e 99% de identidade nucleótida da região ITS (Figura 4.5).

A Classe de fungos Leotiomycetes foi o *taxa* mais representado neste estudo com 60 isolados pertencentes a quatro espécies. A Classe dos fungos Dothideomycetes foi o *taxa* menos representado, com apenas quatro isolados pertencentes á espécie *Alternaria* sp.

A Família Sclerotiniaceae, foi a família mais representada com 37,8% do total dos isolados obtidos, sendo a Família Pleosporaceae a menos representada com apenas quatro isolados.



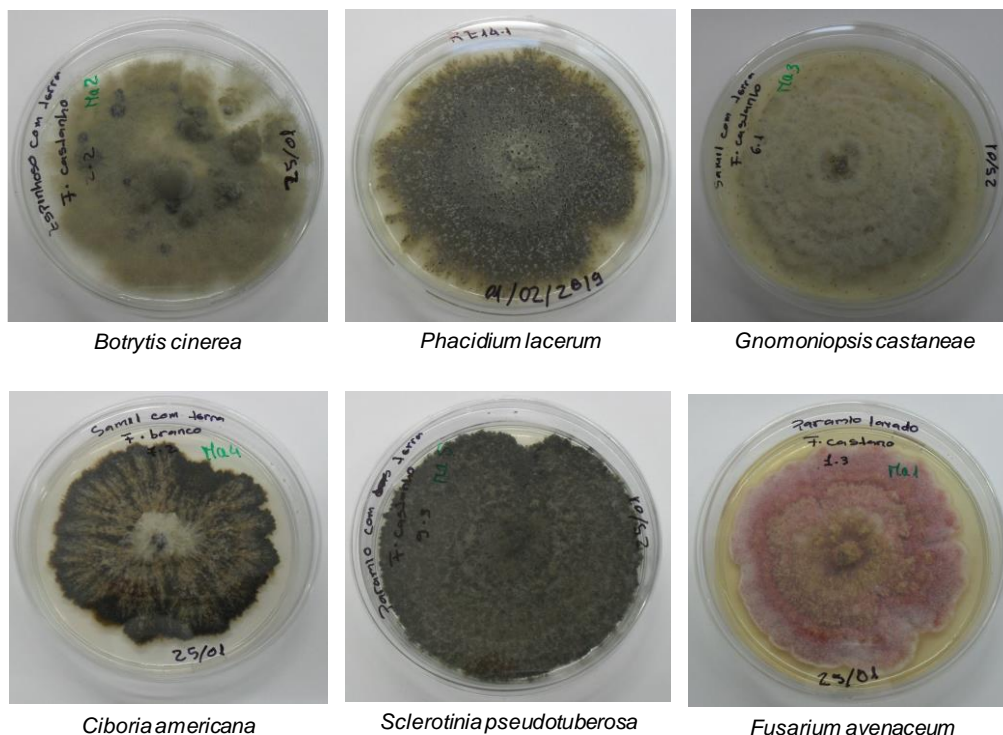


**Figura 4.5.** Identidade nucleotídica (%) da região ITS dos diferentes fungos isolados das castanhas doentes.

**Tabela 4.5.** fungos presentes nas castanhas doentes (nº de isolados e % de isolados)

(Classe: Familias: Espécies)*	Nº isolados	% isolados
Dothideomycetes		
Pleosporaceae		
<i>Alternaria</i> sp.	4	3,6
Eurotiomycete		
Aspergillaceae		
<i>Penicillium</i> sp.	14	12,6
Leotiomycetes		
Phacidiaceae		
<i>Phacidium lacerum</i> Fr.	18	16,2
Sclerotiniaceae		
<i>Botrytis cinerea</i> (De Bary) Whetzel, 1945	23	20,7
<i>Ciboria americana</i> E.J. Durand	10	9
<i>Sclerotinia pseudotuberosa</i> Rehm (1885)	9	8,1
Sordariomycetes		
Gnomoniaceae		
<i>Gnomoniopsis castaneae</i> Tamietti	17	15,3
Nectriaceae		
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.	7	6,3
Zygomycetes		
Mucoraceae		
<i>Mucor racemosus</i> Bull. (1791)	4	3,6
<i>Rizhopus</i> sp.	3	2,7
Outros	2	1,8
Total de isolados	111	

\*de acordo com o Index Fungorum.



**Figura 4.6.** Principais espécies de fungos identificados neste estudo

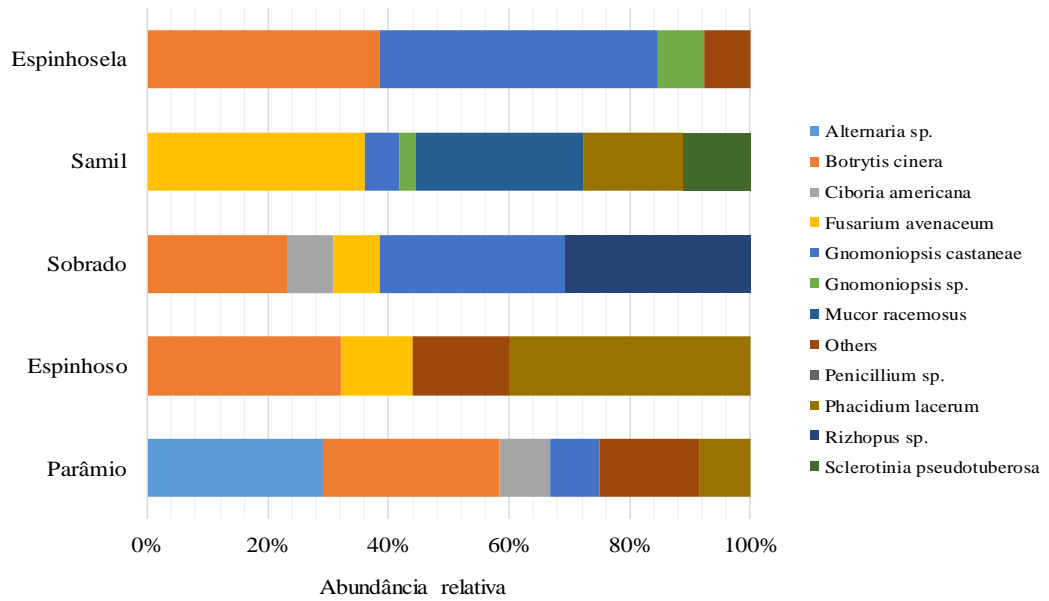
*Botrytis cinerea* (De Bary) Whetzel foi a espécie mais representada no conjunto dos isolados estudados, com 20 isolados, seguida dos fungos *Phacidium lacerum* Fr. com 18 isolados e *Gnomoniopsis castaneae* Tamietti com 17 isolados (Figura 4.6.)

*Rizhopus* sp. foi a espécie menos representada, com apenas 3 isolados. Em dois isolados não foi possível, por meios moleculares, identificar a espécie.

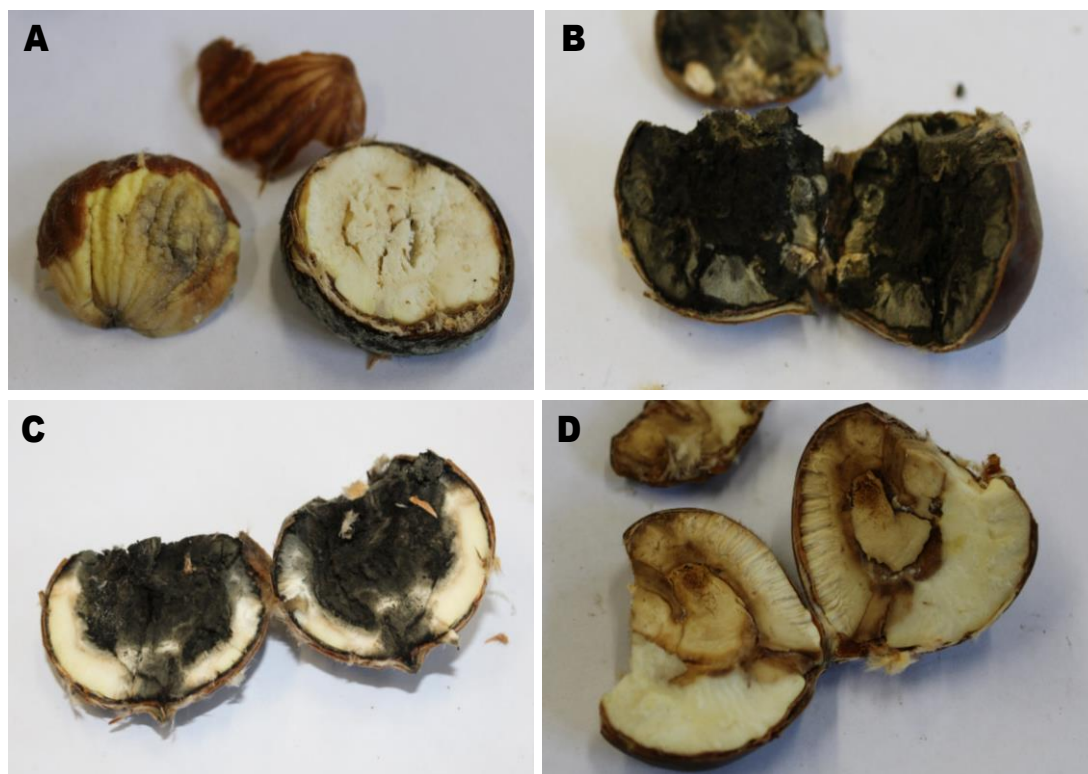
*B. cinerea* foi isolada de quase todos os locais de estudo, com exceção das castanhas provenientes de Samil, onde não foi isolado esta espécie (Figura 4.7).

Entre as principais espécies isoladas neste estudo, *Gnomoniopsis castaneae* Tamietti foi isolado de castanhas que apresentavam os cotilédones com uma coloração esbranquiçada-acastanhada (Figura 4.8), sendo reconhecida em muitas regiões por podridão castanha “Brown rot”. *Botrytis cinerea*, *Ciboria americana* e *Sclerotinia pseudotuberosa pseudotuberosa* foram isolados de castanhas com os cotilédones apresentando coloração escura (cinzento escuro/preto). *Phacidium lacerum* e *Penicillium* sp. foram isolados de castanhas que apresentavam os cotilédones com coloração verde escura. *Fusarium avenaceum* foi isolado de castanhas com coloração castanha clara.

A abundância relativa das espécies de fungos isoladas das castanhas nos diferentes locais de estudo está representada na figura 4.7.



**Figura 4.7.** Abundância relativa das espécies de fungos isoladas das castanhas nos diferentes locais de estudo.



**Figura 4.8.** Castanhas mostrando sintomas do ataque de diferentes fungos (A – Sintomatologia associada a *Gnomoniopsis castaneae*, B – Sintomatologia associada a *Phacidium lacerum* e *Penicillium* sp., C – Sintomatologia associada a *Botrytis cinerea*, *Ciboria americana* e *Sclerotinia pseudotuberosa*, D – Sintomatologia associada a *Fusarium avenaceum*).

#### 4.3.1 Comportamento biológico dos diferentes fungos

As espécies obtidas neste estudo foram classificadas quanto ao comportamento biológico (saprófita, endófitica, parasítica) por pesquisa bibliográfica, tendo uma espécie sido classificada como parasita, três classificadas como saprófitas, duas classificadas como endófitas/ parasíticas, três classificadas como saprófita/parasítica e uma classificada como endófitica/ saprófita (Tabela 4.6).

**Tabela 4.6.** Comportamento biológico das diferentes espécies de fungos identificadas

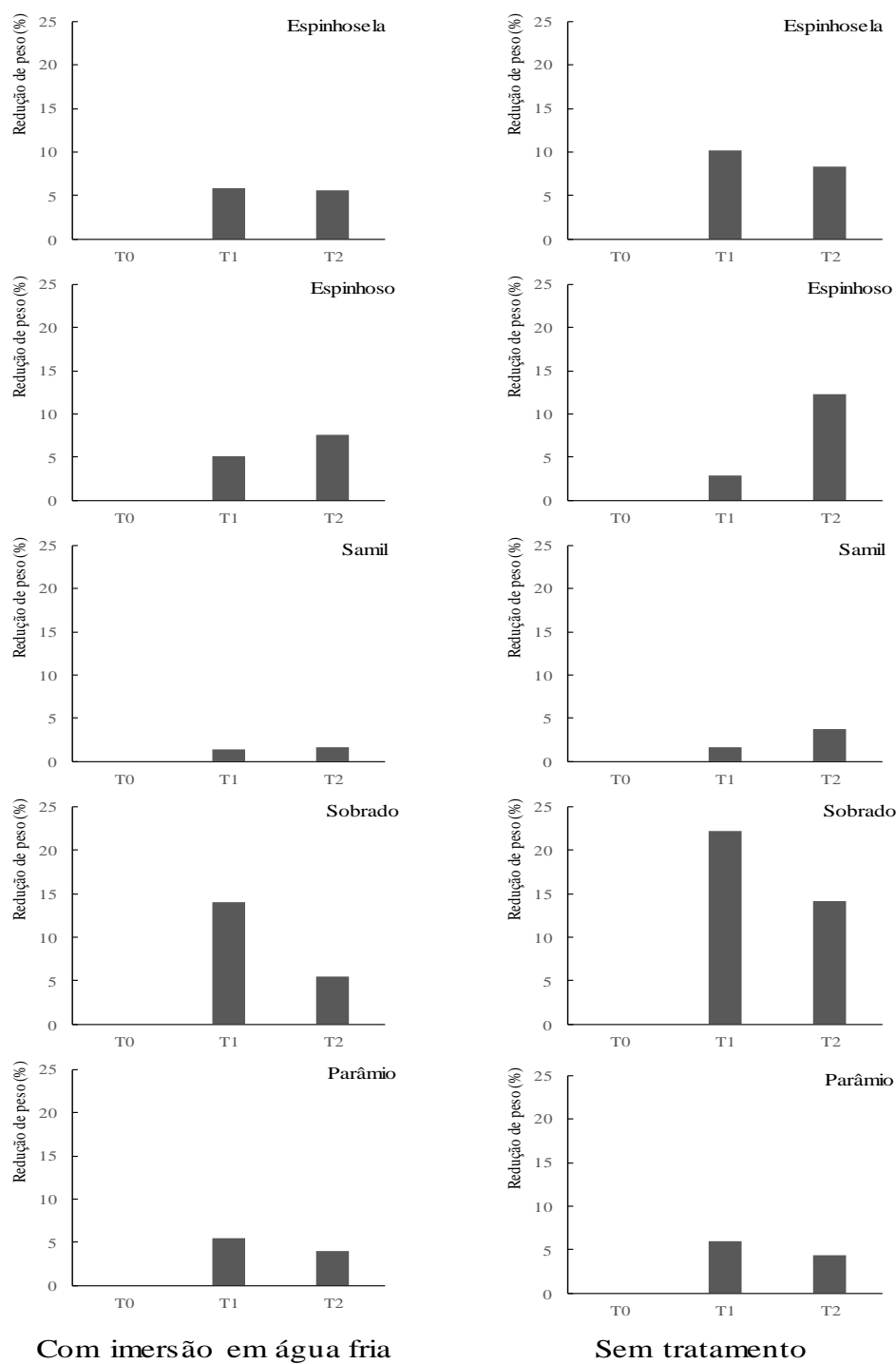
Espécie	Comportamento Biológico			Referência
	S	E	P	
<i>Alternaria</i> sp.	×		×	Thomma, B.P.H.J., 2003
<i>Botrytis</i> cinérea	×		×	Williamson et al., 2007
<i>Ciboria</i> americana	×			Diamandis & Perlerou, 2001
<i>Fusarium</i> avenaceum		×	×	Chang et al., 2003; Crous et al., 1995
<i>Gnomoniopsis</i> smithogilvyi		×	×	Ahmad Dar & Rai, 2015
<i>Mucor</i> racemosus	×			Casale et al., 1990.
<i>Penicillium</i> sp.	×			Samson et al., 2004
<i>Phacidium</i> lacerum			×	Wiseman et al., 2016
<i>Rizhopus</i> sp.	×		×	Kirk et al., 2001
<i>Sclerotinia</i> pseudotuberosa	×	×		Delatour e Morelet, 1979; Vettraino et al., 2005

Comportamento biológico, S – saprófita, E – endofítica, P - parasítica

#### 4.4. Avaliação da perda de peso durante armazenamento

Após cada lote de castanhas ser submetido aos diferentes tratamentos (1 - imersão em água corrente e 2 - sem tratamento) registou-se o peso de cada lote em três diferentes tempos (imediatamente após a colheita (T0), um mês de armazenamento após a colheita (T1) e dois meses de armazenamento após a colheita (T2), de modo a verificar as perdas de peso que poderão ocorrer nos diferentes tempos de conservação. O valor relativo à percentagem de perda de peso nos diferentes tratamentos e em cada tempo de conservação está apresentado na Figura 4.9.

De um modo geral, todos os lotes de castanhas que foram sujeitas ao tratamento por imersão em água corrente apresentaram menor perda de peso, nos diferentes tempos de conservação, com exceção do lote de castanhas de Espinhoso com imersão em água corrente e um mês em armazenamento a 12°C, que apresentou maior perda de peso relativamente ao lote que não foi sujeito ao tratamento por imersão em água corrente.



**Figura 4.9.** Redução de peso (%) das castanhas dos diferentes locais de estudo (Espinhosela, Espinhoso, Samil, Sobrado e Parâmio) sujeitas a dois tratamentos modalidades (1 - imersão em água corrente e 2 - sem tratamento) em três diferentes tempos (imediatamente após a colheita - T0, um mês de armazenamento após a colheita - T1 e dois meses de armazenamento após a colheita - T2) quando conservadas a 12°C.

As castanhas provenientes de Sobrado (de maior calibre) e que não foram sujeitas a imersão em água corrente, foram a que apresentaram maior perda de peso, quer as castanhas que estiveram um mês em armazenamento (22,2% de perda de peso) quer as castanhas que estiveram dois meses em armazenamento (14,1% de perda de peso). A menor perda de peso foi registada nas castanhas de menor calibre (Samil), com 1,6% de perda de peso um mês em armazenamento após a colheita e 3,74% de perda de peso dois meses em armazenamento após a colheita, em castanhas que não foram sujeitas à imersão em água corrente e 1,5% de perda de peso um mês em armazenamento após a colheita e 1,6% de perda de peso dois meses em armazenamento após a colheita em castanhas que foram sujeitas à imersão em água corrente.

Pela análise da Figura 4.9 pode-se verificar que a perda de peso não dependeu do tempo de conservação já que em algumas situações, a perda de peso foi maior em lotes de castanhas com um mês de armazenamento após a colheita relativamente aos lotes que estiveram com dois meses de armazenamento após a colheita.

Neste estudo, em castanhas sujeitas ao tratamento por imersão em água corrente, e considerando o peso por castanha de cada variedade, verificou-se que as perdas de peso ao fim de 60 dias para a variedade Judia, variaram entre 0,11-0,15 gr, e para a variedade Longal variaram entre 0,03-0,11. Em castanhas que não foram sujeitas ao tratamento por imersão em água corrente, as perdas de peso por castanha ao fim de 60 dias variaram entre 0,25-0,28 gr para a variedade Judia e 0,08-0,17 gr para a variedade Longal.

#### **4.5. Alteração de cor e germinação durante o armazenamento**

Para estudar este parâmetro foram analisados separadamente quatro lotes de 50 castanhas (2 em Espinhosela e 2 em Samil - concelho de Bragança) na mesma altura em que se procedeu à recolha dos outros lotes já mencionados. As castanhas foram avaliadas ao fim de três meses após armazenamento em camara de conservação a 12°C.

Os resultados da cor das castanhas após armazenamento durante três meses são apresentados na Tabela 4.7.



**Tabela 4.7.** Percentagem de alteração de cor em castanhas de Samil e Espinhosela (Bragança) quando armazenadas durante três meses (1 – sem alteração de cor, 2 – alteração de cor até 25%, 3 – alteração de cor até 50%, 4 – alteração de cor até 75%, 5 – alteração de cor até 100%).

	Grau de alteração				
	1	2	3	4	5
Samil (l)	9,8	74,5	13,8	1,9	0,0
Samil (st)	2,0	60,0	36,0	2,0	0,0
Espinhosela (l)	2,5	52,5	35,0	10,0	0,0
Espinhosela (st)	0,0	38,0	32,0	28,0	2,0

l – castanhas lavadas, st – sem tratamento

Pela análise da Tabela 4.7 verificou-se que a maioria das castanhas apresentava ao fim de três meses alteração de cor até 25%, e uma considerável percentagem dessas castanhas com alteração de cor entre os 50% e os 75%.

Os resultados das castanhas que germinaram estão apresentados na Tabela 4.8. Relativamente à germinação, verificou-se que nas castanhas que não foram sujeitas ao tratamento por imersão em água corrente, a percentagem de castanhas germinadas foi maior relativamente às castanhas que foram sujeitas ao tratamento por imersão em água corrente, tanto em Samil como em Espinhosela.

**Tabela 4.8.** Percentagem de castanhas germinadas em Espinhosela e Samil nos diferentes tratamentos (1 - imersão em água corrente e 2 - sem tratamento).

	Imersão em corrente	Sem tratamento
Espinhosela	4	20
Samil	8	12

#### 4.6. Percentagem de humidade durante armazenamento

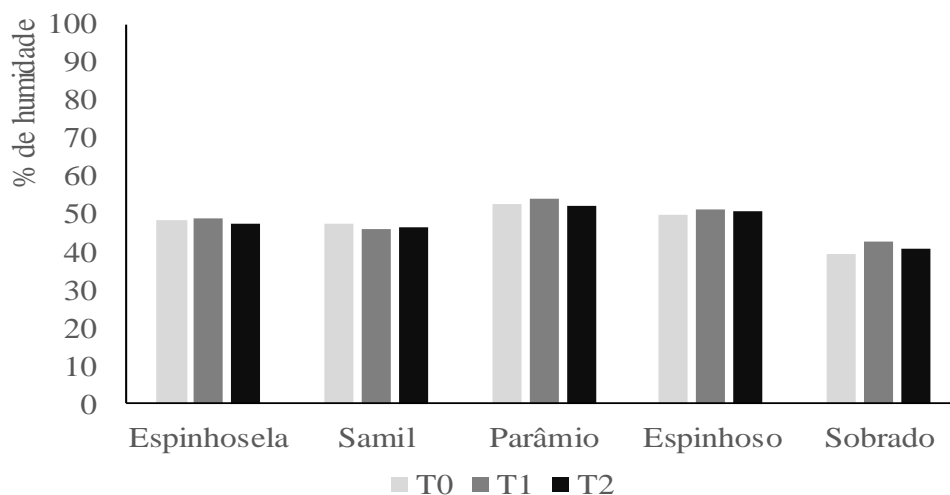
Os valores relativos ao peso total (gramas) de 10 castanhas saudáveis e o seu respetivo peso seco após secagem em estufa a 60°C, estão expressos na Tabela 4.9.

**Tabela 4.9.** Valores do peso seco (gr) nos diferentes locais de estudo (Espinhosela, Espinhoso, Samil, Sobrado e Parâmio) em três diferentes tempos (T0, T1, T2).

	(T0)		(T1)		(T2)	
	Peso total	Peso seco	Peso total	Peso seco	Peso total	Peso seco
Espinhosela	91,51	44,30	132,39	64,90	128,66	61,07
Parâmio	131,44	62,56	128,94	59,63	129,98	60,54
Samil	63,85	33,63	68,51	36,94	83,74	43,62
Espinhoso	98,82	49,19	134,86	69,33	129,75	66,14
Sobrado	176,82	70,01	146,92	62,88	161,93	66,56

Neste estudo, a percentagem de humidade variou entre 39,6% em Sobrado a 53,9% em Parâmio. Analisando os diferentes tempos estudados, verifica-se que praticamente não há variação da percentagem de humidade entre o T0 e T2 (Figura 4.10).

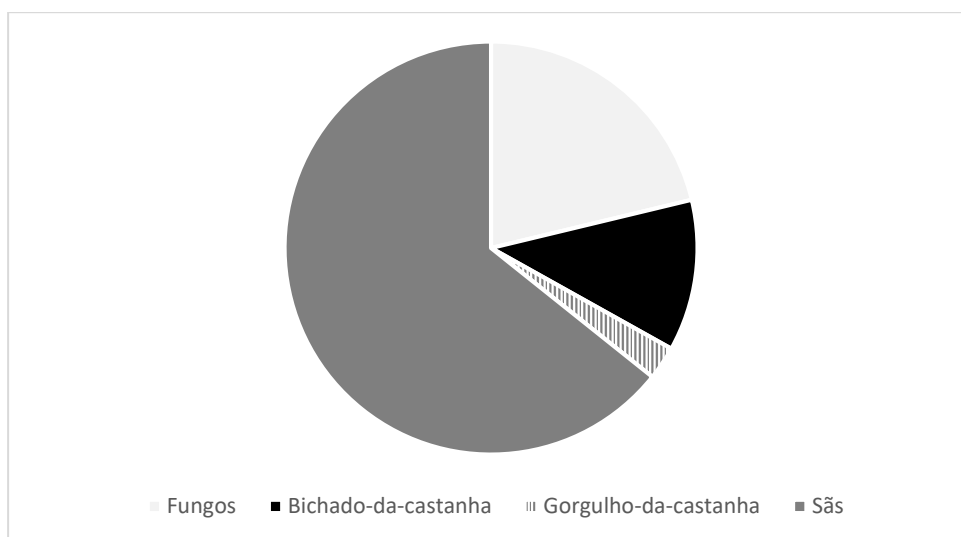
O valor da percentagem de humidade verificada em todos os tempos estudados para as castanhas de Sobrado (concelho de Valpaços) onde predomina a variedade Judia está abaixo dos valores referidos por Borges *et al.* (2007) onde refere valores de percentagem média para esta variedade de aproximadamente 53%.



**Figura 4.10.** Percentagem de humidade das castanhas nos diferentes locais estudados (Espinhosela, Parâmio, Samil, Espinhoso e Sobrado) nos diferentes tempos estudados (T0 - imediatamente após a colheita, T1 - um mês após a colheita, T2 - dois meses após a colheita).

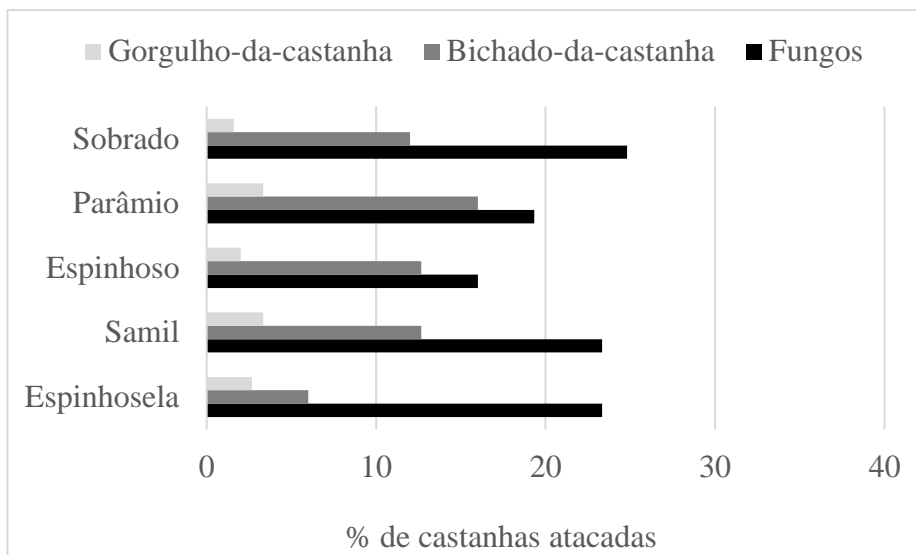
#### 4.7. Avaliação do efeito do tratamento por água e tempo de conservação sobre os parasitas das castanhas

Do total de castanhas estudadas, 932 castanhas (que representam 64,7% do total de castanhas estudadas) não apresentavam qualquer ataque provocado por fungos ou pragas, sendo consideradas sãs, 308 (21,2%) castanhas estavam infetadas por fungos, 172 (11,9%) castanhas estavam atacadas por Bichado-da-castanha e 38 (2,6%) castanhas estavam atacadas por Gorgulho-da-castanha. Neste estudo, a percentagem de castanhas atacadas por fungos foi superior (quase o dobro) do que as castanhas atacadas por pragas (Figura 4.11).



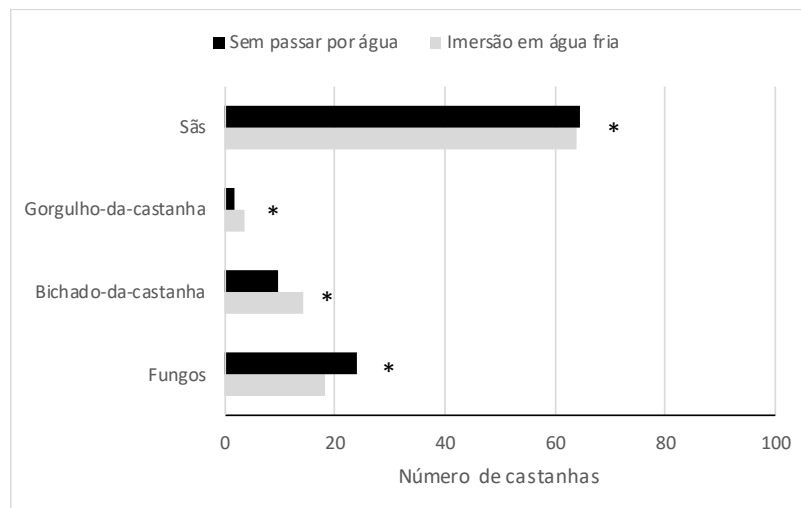
**Figura 4.11.** Percentagem de castanhas, sãs, atacadas por fungos, Bichado da-castanha e Gorgulho-da-castanha.

Analisando as castanhas por local de estudo verifica-se que as castanhas provenientes de Sobrado (concelho de Valpaços) apresentavam o valor mais alto (24,8%) de castanhas infetadas por fungos (Figura 4.12). O valor mais baixo (16,0%) foi obtido em Espinhoso (concelho de vinhais). As castanhas provenientes do Parâmio (concelho de Bragança) foram as que estavam mais atacadas por pragas, 16,0% de ataque por Bichado-da-castanha e 3,3% de ataque por Gorgulho-da-castanha.



**Figura 4.12.** Percentagem de castanhas atacadas por fungos, Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha nos diferentes locais de estudo (Sobrado, Parâmio, Espinhoso, Samil e Espinhosela).

A percentagem de castanhas sãs na modalidade em que as castanhas foram sujeitas ao tratamento por imersão em água corrente foi de 64,0 %, e nas castanhas que não foram sujeitas a qualquer tratamento foi de 64,5% (Figura 4.13).



**Figura 4.13.** atacadas por Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha, nas modalidades estudadas (castanhas sujeitas à imersão por água corrente, e sem tratamento). (\* sem diferenças significativas entre os tratamentos).

Pela análise dos resultados, verifica-se que a percentagem de castanhas atacadas por fungos é superior na modalidade que não foi sujeita à passagem por água corrente. Não acontece o mesmo no que se refere às pragas pois em ambos os casos o número de

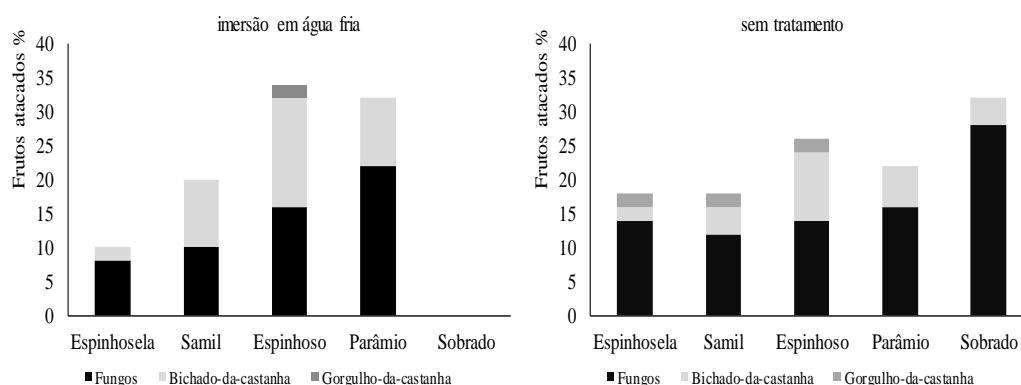
castanhas atacadas por pragas é inferior nesta modalidade. No entanto não se verificam diferenças significativas entre os tratamentos, quer para as castanhas sãs, fungos, Bichado-da-castanha ou Gorgulho-da-castanha.

Analisando os diferentes tempos em estudo: imediatamente após a colheita (T0), um mês de armazenamento após a colheita (T1) e dois meses de armazenamento após a colheita (T2), verifica-se que em ambos os tratamentos a percentagem de castanhas atacadas por fungos diminui à medida que aumenta o tempo de conservação (Tabela 4.10). Relativamente as pragas estudadas, o mesmo não se verifica.

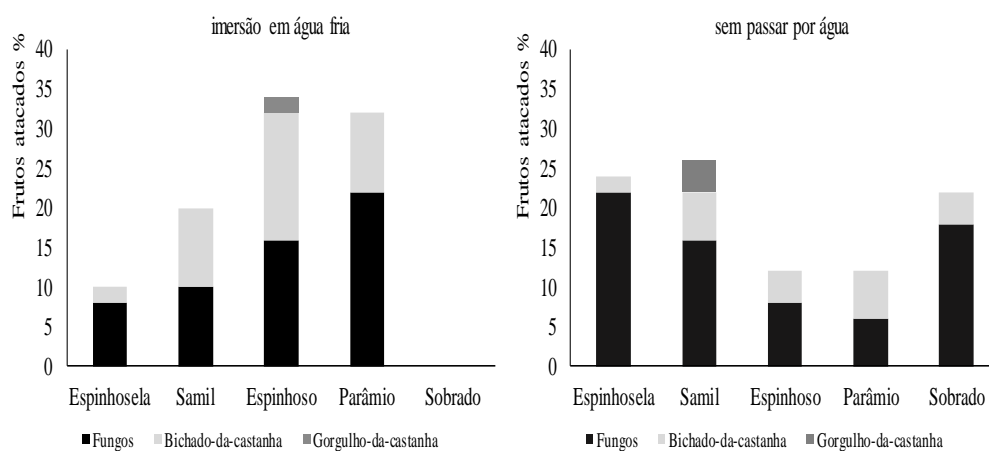
**Tabela 4.10.** Percentagem de castanhas atacadas por fungos, Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha nos diferentes tempos de estudo tempos: imediatamente após a colheita (T0), um mês de armazenamento após a colheita (T1) e dois meses de armazenamento após a colheita (T2).

	Sem tratamento			Imersão em água fria		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
Fungos	11,2	9,3	3,5	8,0	7,4	2,9
Bichado-da-castanha	3,5	2,9	3,2	5,4	4,9	4,0
Gorgulho-da-castanha	0,8	0,5	0,5	0,3	0,6	2,6

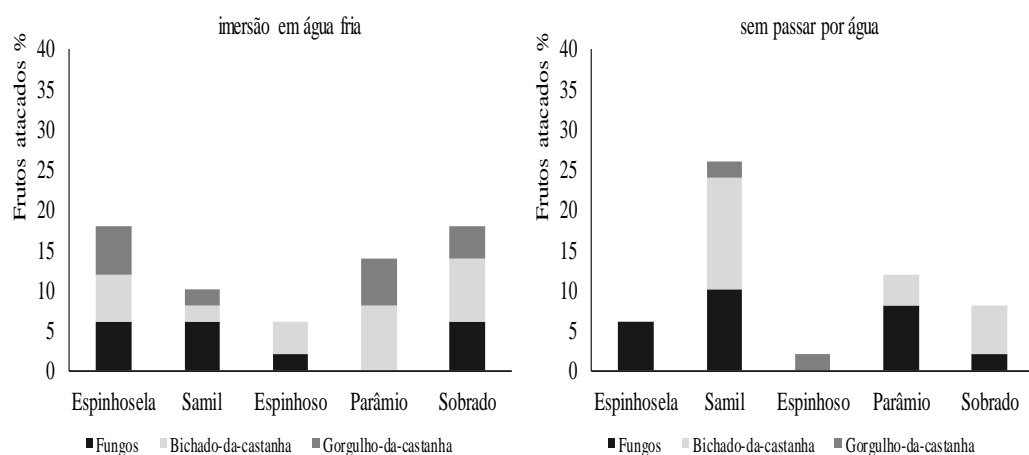
Os dados relativos às castanhas atacadas por fungos, Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha nos diferentes tempos estudados: imediatamente após a colheita (T0), um mês de armazenamento após a colheita (T1) e dois meses de armazenamento após a colheita (T2), sujeitas aos diferentes tratamentos (1 - imersão em água corrente e 2 – sem tratamento) e nos diferentes locais de estudo (Espinhosela, Samil, Espinhoso, Parâmio e Sobrado) encontram-se nas Figuras 4.14 e 4.15 e 4.16.



**Figura 4.14.** Percentagem de frutos atacados por insetos (Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha) e de podridões provocadas por fungos em diferentes locais de estudo (Espinhosela, Espinhoso, Samil, Sobrado e Parâmio) e sujeitas a dois tratamentos modalidades (1 - imersão em água fria e 2 - sem tratamento) observadas imediatamente após a colheita (T0).



**Figura 4.15.** Percentagem de frutos atacados por insetos (Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha) e de podridões provocadas por fungos, de castanhas de diferentes locais de estudo (Espinhosela, Espinhoso, Samil, Sobrado e Parâmio) e sujeitas a dois tratamentos modalidades (1 - imersão em água corrente e 2 - sem tratamento) observadas após 30 dias (T1).



**Figura 4.16.** Percentagem de frutos atacados por insetos (Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha) e de podridões provocadas por fungos, de castanhas de diferentes locais de estudo (Espinhosela, Espinhoso, Samil, Sobrado e Parâmio) e sujeitas a dois tratamentos modalidades (1 - imersão em água corrente e 2 - sem tratamento) observadas após 60 dias (T2).

## **CAPÍTULO 5.**

### **DISCUSSÃO E CONCLUSÕES**



A castanha em fresco é um fruto de elevada qualidade, mas facilmente perecível. A qualidade é influenciada por fatores bióticos e abióticos que ocorrem em pré-colheita, durante a colheita e em pós-colheita. Os principais fatores bióticos na depreciação da castanha são as contaminações por fungos e o desenvolvimento de larvas de insetos. No entanto, outros fatores de natureza abiótica, como a humidade, a temperatura, etc., podem ter um papel importante na qualidade da castanha. Neste trabalho, avaliou-se os fatores bióticos e abióticos de pré colheita que podem influenciar a qualidade da castanha.

As castanhas estudadas neste trabalho foram provenientes de cinco locais de Trás-os-Montes. O peso médio (gramas) das castanhas estudadas variou entre 721,15 ( $\pm 59,57$ ) (média  $\pm$  desvio padrão) gr, obtido em castanhas da variedade Judia e 294,66 ( $\pm 10,96$ ) gr obtido em castanhas da variedade Longal. Os resultados obtidos no presente estudo corroboram com outros trabalhos onde este parâmetro foi estudado. Os lotes de castanha, para serem comercializadas em fresco devem ser uniformes, do mesmo calibre e as castanhas apresentarem o mesmo grau de desenvolvimento. Para a comercialização da castanha, o número mínimo de castanhas por kg é de 125 (ONU, 2017). Neste estudo, e apesar de as castanhas terem sido apanhadas segundo as variedades, verifica-se que existe variabilidade na dimensão das castanhas, já que para a variedade Longal o número de castanhas por kg variou entre 97 e 170 castanhas, e para a variedade Judia o número de castanhas por kg variou entre 70 e 90 castanhas. No soute de Samil o número de castanhas por kg (170 castanhas) ultrapassa o mínimo exigido para comercialização. O peso médio mais alto registado em Sobrado (concelho de Valpaços) resulta de neste lugar predominar a variedade Judia, considerada uma variedade com frutos de grande calibre (50-70 frutos/kg) (Matos, 2003). Em Samil (concelho de Bragança) foi registado o peso médio mais baixo. Neste lugar, onde predomina a variedade Longal de calibre pequeno a médio (90-100 frutos/Kg) (Matos, 2003) o peso médio de 50 castanhas é inferior ao registado em Espinhosela e Parâmio (concelho de Bragança) onde esta variedade também está presente. Em Espinhoso (concelho de Vinhais) apesar das castanhas serem provenientes da variedade Judia, o peso médio das castanhas aproximou-se mais dos valores obtidos para a variedade Longal. As variações encontradas para a mesma variedade, poderão ser devido às castanhas serem oriundas de diferentes locais, estarem sujeitas a diferentes praticas agrícolas (ex: fertilização, lavouras, regas, etc.) e apresentarem diferentes graus de

desenvolvimento. A falta de uniformidade das castanhas que vem do campo é um problema para as fabricas de processamento de castanha, já que estas geralmente têm origem de diferentes locais e os lotes têm uma mistura de diferentes variedades. Por exemplo, Álvarez (2010) refere que, na zona de El Bierzo (muito próximo do Nordeste Transmontano) a má fertilização dos soutos e as secas prolongadas tem aumentado o número de castanhas colhidas com importantes defeitos que se traduz em perdas quer de quantidade quer de qualidade.

No que diz respeito às questões sanitárias das castanhas, estas para serem comercializadas devem ter o mínimo de defeitos, existindo uma tolerância mínima permitida segundo a categoria em que a castanha é comercializada (Categoria Extra, Categoria I e Categoria II) (Ver Norma OCDE/ONU - UNECE FFV-39). No nosso estudo, as castanhas observadas à altura da colheita apresentaram sintomas de podridão em todos os locais estudados com percentagens variando entre os 11,0% e 28,0%. Relativamente às pragas, o Bichado-da-castanha esteve presente em todos os locais de estudo com ataques entre os 2,0% e 13,0% e o Gorgulho-da-castanha esteve presente em três locais com reduzido ataque (1,0%-2,0%). De um modo geral, a percentagem de castanhas com defeitos devido às podridões e pragas na altura da colheita, variou entre 3-11% entre os diferentes soutos, acima do valor das tolerâncias permitidas em castanhas para comercialização. Esta situação realça a ideia de que ainda há muito por fazer para melhorar a qualidade das castanhas na produção.

A água é o principal constituinte da castanha representando mais de 50% do seu peso (Barreira *et al.*, 2009). O excesso de calor, quer antes ou depois da colheita é um dos fatores que pode contribuir para as perdas de humidade na castanha. De modo a se compreender as perdas de humidade que ocorrem na castanha desde a colheita e durante um determinado tempo de conservação, avaliaram-se diferentes lotes de castanhas sujeitas ao tratamento por imersão em água corrente e sem tratamento por imersão em água. De um modo geral, todos os lotes de castanhas que foram sujeitas ao tratamento por imersão em água corrente apresentaram menor perda de peso, nos diferentes tempos de conservação, com exceção do lote de castanhas de Espinhoso com imersão em água corrente e um mês em armazenamento a 12°C, que apresentou maior perda de peso relativamente ao lote que não foi sujeito ao tratamento por imersão em água corrente. A menor perda de peso pode dever-se ao facto de que a cobertura da castanha (casca) produz um efeito tipo esponja, absorvendo alguma água. De acordo com Migliorini *et*

al. (2010), a hidratação das castanhas durante a cura pela água resulta em menores perdas de humidade durante o armazenamento e, portanto, maior vida útil do fruto. Donis-González (2008), num estudo sobre tratamentos pós colheita, onde as castanhas da variedade ‘Colossal’ eram mergulhadas em água e depois eram aplicados diferentes produtos fungicidas, verificou que ao fim de 60 dias de conservação, as perdas de peso por castanha, variaram entre 0,17-0,40 gr nos diferentes tratamentos. A qualidade da castanha é medida por fatores externos, como cor, forma, tamanho, manchas na superfície e bolores, que são muito importantes para a aceitação do consumidor (Wang *et al.*, 2000). Neste estudo, verificou-se que as castanhas que não foram sujeitas a tratamento por imersão em água apresentaram maior alteração de cor que as castanhas que foram sujeitas a tratamento por imersão em água. A percentagem de castanhas estragadas, observadas neste estudo, foi de 35,3% sendo que mais de 21% do total das castanhas estavam infestadas por fungos. As castanhas atacadas por pragas (Bichado-da-castanha e Gorgulho-da-castanha) representaram cerca de 14% do total das castanhas. Quando se compara os tratamentos efetuados as castanhas (imersão em água corrente e sem passar por água), verifica-se que a percentagem de castanhas atacadas por fungos é superior na modalidade que não foi sujeita à passagem por água. A cura pela água é um tratamento tradicional de pré-armazenamento amplamente utilizado na Europa, onde as castanhas são imersas em água por 7 a 9 dias para reduzir o inóculo de fungos durante o armazenamento e matar larvas de insetos dentro da castanha (Mencarelli, 2001; Botondi *et al.*, 2009). Pela análise dos nossos resultados podemos concluir que a passagem das castanhas por água corrente promoveu uma redução da infestação por fungos. Migliorini *et al.* (2010) também verificaram que a cura pela água tem um efeito inibidor sobre os fungos que infetam a castanha (como por exemplo, *Ciboria batschiana*, agente da podridão negra). A lavagem das castanhas com água remove a micoflora da superfície das castanhas promovendo deste modo uma redução da infestação por fungos. Também, a hidratação da superfície da castanha promove a difusão da água do pericarpo para o endosperma (fenómeno de convecção em massa) causando transferência de massa (isto é, compostos fenólicos) por difusão do episperma para o pericarpo. O aumento na concentração de compostos fenólicos no pericarpo e, como resultado na cura de águas, resulta na diminuição da flora microbiana na castanha. Neste estudo foram obtidos 111 isolados de microfungos a partir das castanhas com sintomas, tendo sido identificadas 10 espécies no total dos isolados estudados. B.

*cinerea* foi a espécie mais representada no conjunto dos isolados estudados, seguida dos fungos *P. lacerum* e *G. castaneae*. Entre as principais espécies isoladas neste estudo, *G. castaneae* foi isolado de castanhas que apresentavam o cotilédone com uma coloração esbranquiçada-acastanha, sendo reconhecida em muitas regiões por podridão castanha, designada em inglês por “Brown rot”. Esta espécie geralmente ocorre como saprófita em ramos ou no fruto de também como endófito em flores, folhas e caules do castanheiro (Shuttleworth, 2012). Os frutos atacados por este fungo geralmente acabam por mumificar (ficar desidratados). Existe uma correspondência estreita entre os sintomas desta espécie e os de *P. endogena*, apresentando ambas as espécies características morfológicas muito similares.

Devido à natureza sazonal da produção e à curta vida útil da castanha (Bergognoux, 1978, Tan *et al.*, 2007) e devido à sua alta atividade metabólica, vários métodos de preservação foram propostos para evitar a perda de peso e a contaminação por insetos, microrganismos ou reações enzimáticas (como a que degrada o amido), que causa uma grande diminuição da qualidade da castanha (Anelli *et al.*, 1984, Breisch, 1993). Ao longo dos séculos, foram desenvolvidas algumas técnicas industriais para a preservação de grandes quantidades de castanhas em fresco. A imersão em água fria (também conhecido como nome de hidroterapia em água fria), e “termização” (que também inclui a imersão em água quente, hidroterapia quente ou termohidroterapia) são as técnicas mais usadas. No entanto, os métodos de tratamento das castanhas disponíveis não são suficientes para garantir que todo o fruto chegue com qualidade ao consumidor final. Deste modo seria necessário propor medidas para a melhoria da qualidade da castanha durante o processo produtivo, processamento e armazenamento:

- Controlar as pragas da castanha com os meios de luta adequados,
- Manter e limpar o solo (remover ramos caídos, cortar as infestantes) no soto; as castanhas que estejam atacadas e se encontrem espalhadas no chão serão mais facilmente distinguíveis (especialmente se for uma colheita manual),
- De modo a se reduzir o ataque de pragas nos anos seguintes deve-se recolher os frutos atacados e eliminá-los,
- Fazer lavouras pouco profundas de modo a destruir larvas destas pragas que se encontrem no solo,

- Evitar ferimentos nas castanhas durante a colheita. Danos mínimos, como a rutura da casca, podem abrir a porta para uma infeção por fungos,

- Remover as castanhas “inutilizadas” (frutas verdes, vazias, colonizadas por larvas de insetos ou pequenas), pois isso reduz a presença de esporos de fungos e larvas de insetos nas castanhas,

- Após a colheita, os frutos devem ser tratados tão rapidamente quanto possível de modo a evitar que os processos de modificação, tais como a fermentação ou perda de humidade, não sejam incentivados, pelo aumento do metabolismo que ocorre nas castanhas e eventualmente combinado com as más condições de armazenamento.

## **CAPÍTULO 6.**

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Agazeta da beira, (2013). Jornal de Lafões – S. Pedro do Sul. Vouzela. Oliveira de Frades. Castro Daire. Viseu. [online]  
<https://www.gazetadabeira.pt/osbalaninos> [accedido em 26/03/2020].
- Agroconsultores-Coba, (1991). Carta de Solos, Carta do Uso Actual da Terra e Carta de Aptidão da Terra do Nordeste de Portugal. UTAD/PDRITM, Vila Real.
- Ahmad Dar, M., Rai, M., (2015). *Gnomoniopsis smithogilvyi*, a canker causing pathogen on *Castanea sativa*: First report. Mycosphere 6 (3): 327–336 p.
- Altschul, S., Madden, T., Schäffer, A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D., (1997). "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs". Nucl. Acids Res. 25: 3389-3402 p.
- Álvarez, S., (2010). La castaña como produto de calidad en El Bierzo. In: Fernández-Manso, A., Martínez, C., Nespral, A., 2010. Un futuro para el castaño. Estudios sobre el castaño en la comarca de El Bierzo. ISBN978-84-614-1807-7.
- Anelli, M., Mencarelli, F., (2006). Aspetti innovativi dei trattamenti conservativi delle castagne, in Ati del Convegno Nazionale sulla Castanicoltura da Frutio, Camera di Commercio Industria, Artigianato, Agricoltura, Avellino, 21-22 October 1988, 343 - 350 p.
- Antonio, L.; Barreira, M.; Caroch, M.; Bento, A.; Ferreira, Isabel, R.; (2012). Irradiação gama e feixe de elétrons: uma alternativa viável no tratamento pós-colheita e promotora da qualidade da castanha. In Fórum CIMO – ciência e desenvolvimento 2012: Livro de resumos. Bragança. ISBN 978-972-745-146-3
- Barreira, M. Casal, S. Ferreira, R. Oliveira, P., Pereira, A., (2009). Nutritional, fatty acid and triacylglycerol profiles of *Castanea sativa* Mill cultivars: a compositional and chemometric approach. Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 5: .2836-2842 p.
- Barreira, M., Pereira, A., Oliveira, P., Ferreira, R., (2010). Sugars profiles of different chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and almond (*Prunus dulcis*) cultivars by HPLC-RI. Plant Foods for Human Nutrition, vol. 65: 38-43 p.
- Bassi, D., Casiraghi, M.C., Mignani, I., Vercesi, A., Delaidelli, G., (2001). Effetto dei trattamenti postraccolta e dei metodi di conservazione sulla qualità delle

- castagne. In: Bellini E (ed.), Atti del Convegno Nazionale sul Castagno, Marradi, Italia, 25–27 October 2001. Florence, University of Florence, 2001: 244–249 p.
- Bento, A., Pereira, S., Pereira, A., (2007). Pragas associadas à castanha em Trás-os-Montes: biologia e estragos. In II Congresso Ibérico do Castanheiro. Vila Real. 254-258 p.
- Bento. A., Cabanas, E., Rodrigues, A., Pereira, A., (2005). Avaliação dos estragos provocados por pragas da castanha em Trás-os-Montes. IV Congresso Nacional de Entomologia Aplicada, X Jornadas Científicas de la S.E.E.A., I Jornadas Portuguesas de Entomologia Aplicada. 17 a 21 de Outubro de 2005.
- Bertuzzi, T., Rastelli, S., Pietri, A., (2015). *Aspergillus* and *Penicillium* toxins in chestnuts and derived products produced in Italy. Food Contr. 50, 876–880 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.047>.resumos: 188 p.
- Botondi, R., Vailati, M., Bellincontro, A., Massantini, R., Forniti, R. e Mencarelli, F., (2009). Parâmetros tecnológicos da cura pela água afetam a fisiologia pós-colheita e o armazenamento de marrons (*Castanea sativa* Mill.). Biol pós-colheita. Technol. 51: 97-103 p.
- Bounous, G.; Botta, R.; Beccaro, G., (2000). Dalle castagne una sferzata di energia: valore nutritivo e pregi alimentari. Associazione per la valorizzazione della castagna, Cuneo, 20 p.
- Bounous, G., Abreu, C. (1998). Metodi de Lotta Integratta al Mal Dell’Inchiostro. Informatore Agrário. Itália.
- Bogenschütz, H., (1991). Eurasian species in forestry. En: Tortricid Pest (L.P.S. van der Geest y Evenhuis, H. H.; Eds.). Elsevier. Ámsterdam. Cap. 7: 673-709 p.
- Bovey, P., Linder, A., Müller, O., (1975). Recherches sur les insectes des châtaignes au Tessin (Suisse). Schweiz. Z. Forstwes. 11: 781–820 p.
- Case, T., (2007). Introduction. Mighty Giants. The American Chestnut Foundation.
- Caro, D., Piga, A., (2008). Polyphenol composition of peel and pulp of two Italian fresh fig fruits cultivars (*Ficus carica* L.). European Food Research and Technology, 226, 715–719 p.



- Cortizo, E., Madriñán, M., Madriñán, F., (1996). El Castaño. 1ª Ed.. Caixa Ourense. España.
- Coelho, R., (1999). Influência da concentração de CO<sub>2</sub> na aclimatização de plantas de castanheiro regeneradas in vitro. Dissertação de Mestrado em Melhoramento de Plantas. Universidade de Évora. Évora.
- Coelho, V., Gouveia, E., (2017). Fungos associados com as podridões da castanha. I Congresso Luso-Brasileiro de Horticultura. Lisboa, 1-4 Novembro, Livro de resumos, 162 p.
- Conedera, M., Jermini, M., Jelmini, G., Sassella, A., Kunsch, U., Scharer, H., Patrian, B., Hohn, E., (2002). Analisi chimica e sensoriale di differenti varietà di castagne. In: Bellini, E. (ed) Atti del «Convegno Nazionale Castagno (2001)», Marradi (Firenze) 25–27 ottobre 2001. 268–280 p.
- Conedera, M., Jermini, M., Sassella, A., Sieber, N., (2004). Récolte, traitement et conservation des châtaignes. Notice pour le praticien, 38. Institut Fédéral de Recherches WSL, Birmensdorf. ISSN 1012-6554 p.
- Conedera, M., Jermini M., Sassella, A., Sieber, T., (2005). Raccolta, trattamento e conservazione delle castagne. Tecniche applicative e loro efficacia. Sherwood 108: 17-23.
- Cortizo, V., Madriñán, V., (1999). O castiñeiro: Bioloxía e patoloxía. Consello da Cultura Galega, Ponencia de Patrimonio Natural, 1999 — XII, 274 p.
- Chung, H.J., Liu, Q., Lee, L., Wei, D.Z., (2011). Relationship between the structure, physicochemical properties and in vitro digestibility of rice starches with diferente amylose contents. Food Hydrocolloids, 25: 968–975p.
- Crous, W., Summerell, A, Shivas, G, Burgess, I, Decock, A., (2012). Fungal Description sheet, *Gnomoniopsis smithogilvyi* L.A. Shuttleworth, E.C.Y. Liew & D.I. Guest, sp. nov. Persoonia. 28: 138–182 p.
- Delatour, C., Morelet, M., (1979). La pourriture noire de glands. Biologie et Forêt, 31: 101-115 p.
- Diamandis, S., Perlerou, C., (2001). The mycoflora of the chestnut ecosystems in Greece. Forest Snow and Landscape Research, 76: 499-504 p.

- DGAV, (2019). Guia dos produtos fitofarmacêuticos para a cultura do castanheiro. [online]  
[http://www.dgav.pt/fitofarmaceuticos/guia/finalidades\\_guia/Insec&Fung/Culturas/castanheiro.htm](http://www.dgav.pt/fitofarmaceuticos/guia/finalidades_guia/Insec&Fung/Culturas/castanheiro.htm) [acedido em 24/01/2019].
- DGAV, (2019). Proteção Integrada das Culturas. Conceitos e Princípios Gerais. [Volume1]  
[http://geo.drapn.minagricultura.pt/agri/archivos/publicaciones/1392826878\\_Prote%C3%A7%C3%A3o%20integrada%20das%20culturas\\_Volume%20I.pdf](http://geo.drapn.minagricultura.pt/agri/archivos/publicaciones/1392826878_Prote%C3%A7%C3%A3o%20integrada%20das%20culturas_Volume%20I.pdf)  
[acedido em 09/03/2020].
- Do Carmo, M., de Vasconcelos, B.M., Nunes, F., Garcia, V.C., Bennett, R.N., Rosa Eduardo, A.S., Ferreira-Cardoso, V., (2010). Industrial processing effects on chestnut fruits (*Castanea sativa* Mill.) 3. Minerals, free sugars, carotenoids and antioxidant vitamins. *International Journal of Food Science and Technology* 45: 496 – 505 p.
- Donis-González, I.R., (2008). Management of microbial decay of fresh and peeled chestnuts in Michigan. Master Thesis. Michigan State University, 147 p.
- Donis-González, I.R., Guyer, D.E., Pease, A., Fulbright, D.W., (2012). Relation of computerized tomography Hounsfield unit measurements and internal components of fresh chestnuts (*Castanea* spp.). *Postharvest Biol. Technol.* 64: 74–82 p.
- FAOSTAT, (2019). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Fernandes, C.T., 1970. Defesa e melhoramento do castanheiro, aspectos fitopatológicos. Direcção Geral dos Serviços Florestais e Aquícolas, Nº 253. Lisboa.
- Ferreira, L., (2011). Interação entre fungos toxigênicos (*Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides*) e carunchos (*Sitophilus zeamais*) em amostras de grãos de milho. 111 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo 2011.
- FORUM FLORESTAL, ( 2020) Estudo Económico de Desenvolvimento da Fileira da Castanha. [Volume1]

[https://www.compete2020.gov.pt/admin/images/Castanha\\_Estudo.pdf](https://www.compete2020.gov.pt/admin/images/Castanha_Estudo.pdf)[accedido em 22/03/2020].

- Giacalone, G., Bounous, G., (1993). Tradizioni ed innovazioni nella trasformazione e nell'utilizzo delle castagne. *Monti boschi* 44, 5: 33–41 p.
- Henriques, C., (2015). Contributo para o Estudo da Produtividade do Castanheiro 'Martainha' em Penela da Beira (DOP "Soutos da Lapa"). Relatório de Mestrado em Engenharia Agronómica. Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, Maio, 93 p.
- Henriques, C., Borges, A., (2017). Castanheiro: Estado da Produção, Manual Técnico, Projecto "Portugal Nuts" Norte-02-0853-FEDER-000004, CNCFS, ISBN:978-989-99878-6-9.
- Humphries, C.J., Sutton, D.A., Press, J.R., More, T., More, D., Garrard, I., (1996). Guia FAPAS – Árvores de Portugal e Europa. Fundo de Protecção dos Animais Selvagens e Pelouro do Ambiente da Câmara Municipal, Porto.
- Imamura, T., Miyanoshta, A., Todoriki, S., Hayashi, T., (2004) Usability of a soft-electron (low-energy electron) machine for disinfestation of grains contaminated with insect pests *Radiat. Phys. Chem.*, 71: 213-215 p.
- Jermi, M., Conedera, M., Sieber, N., Sassella, A., Schärer, H., Jelmini, G., Höhn, E., (2006). Influence of fruit treatments on perishability during cold storage of sweet chestnuts. *J. Sci. Food Agric.* 86: 877–885 p.
- Junta de Andalucía, (2002). *Curculio elephas* Gyll. Fichas divulgativas. Consejería de Medio Ambiente.
- Kader, A., (2002). *Postharvest Technology of Horticultural Crops* (3rd. ed.). California, USA: Regents of the University of California Division of Agriculture and Natural Resources.
- Kim, S.-Y., Sagong, H.-G., Choi, S. H., Ryu, S., Kang, D.-H.; (2012). Radio-frequency heating to inactivate *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* O157:H7 on black and red pepper spice. *International Journal of Food Microbiology*, 153: 171–175 p.

- Laranjo, J., Cardoso, J., Portela, E., Abreu, C., (2007). Castanheiros. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Ed. 380 p. Vila Real
- Laranjo, G., Peixoto, F., Cardoso, F., (2009). “Castanheiros, técnicas e práticas”, Vila Real, Pulido Consulting – Industria Criativa & Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- Liu, C., Wang, S., Chang, X., Wang, S., (2015). Structural and functional properties of starches from Chinese chestnuts. *Food Hydrocolloids*, 43, 568–576 p.
- Marinelli, C., Migliorini, M., Funghini, L., Turchetti, T., Zanoni, B., Canuti S., (2009). Marrone del Mugello PGI: The “water curing” process. *Acta Horticulturae* 844: 47–52 p.
- Mansilla, P., Pérez, R., Pintos, C., Salinero, C., Iglesias, C., (2000). Plagas y enfermedades del castaño en Galicia. Xunta de Galicia. Consellería de Agricultura, Ganadería e Política Agroalimentaria. Pontevedra.
- Mataix, J., García, L., Mañas, M., Martínez, E., Llopis, J., (2003). Tablas de composición de alimentos. Granada, Spain: Universidad de Granada, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos.
- Mencarelli, F., (2001). Postharvest handling and storage of chestnuts. [Online.] Available from <http://www.fao.org/docrep/006/ac645e/ac645e00.HTM> [accessed 22 January 2019].
- Montealegre, J.A., (1984). Pudriciones fungosas en frutos de castanho europea (*Castanea sativa* Mill.). *Fruticola-Ano*, 5: 89-90.
- Moscetti, R., Monarca, D., Cecchini, M., Haff, R.P., Contini, M., Massantini, R., (2014). Detection of Mold-Damaged Chestnuts by Near-Infrared Spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 93: 83–90.
- Niemira, A., (2003). Irradiation of Fresh and Minimally Processed Fruits, Vegetables, and Juices. In J. S. Novak, G. M. Sapers, and V. K. Juneja, *Microbial Safety of Minimally Processed foods* (pp. 279-299). Boca Raton, Florida, USA: CRC Press LLC.
- ONU (2017). UNECE Standard FFV-39, concerning the marketing and commercial quality control of sweet chestnuts. New York and Geneva, 2017.

- OZTEKIN, S., ZORLUGENÇ, B. e ZORLUGENÇ, F.K. (2006), “Effects of ozone treatment on microflora of dried figs”, *Journal of Food Engineering*, 75, 396-399.
- Paiva, J., (1990). *O Castanheiro em Portugal*. Instituto Botânico. QUERCUS – Associação Nacional de Conservação da Natureza. Coimbra, pp. 1-22 p.
- Panda, K., Mohapatra, T., (2015). Changes in tissue structure and textural characteristics of maize grain during cooking process. *Food Measure*, 9: 130–134 p.
- Pinto, P., Cabo Verde, S., Trigo, M.J., Santana, A., Botelho, M.L., (2007). Food irradiation: Microbial, nutritional, and functional assessment. *Radionuc. Concent. Food Environ.* 16: 411–438 p.
- Portela, C., (1994). Note di bio-patologia e tecnica della conservazione e trasporto: marroni e castagne. *Rivista di Frutticoltura*, 56, 4: 75-77 p.
- Portela, E., Pinto, R.; (2004). Práticas culturais em soutos de Trás-os-Montes e relação com a incidência do cancro. Relatório Técnico do Projecto AGRO 151, Vila Real, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- Rigotti, S., (2000). Analisi delle infestazioni da insetti (*Pammene fasciana* L., *Cydia fagiglandana* Zel., *Cydia splendana* Hb., *Curculio elephas* Gyll.) delle castagne in tre selve ticinesi (dados não publicados). In: Conedera, M., Jermini, M., Sassella, A., Sieber, T.N., (2004). Récolte, traitement et conservation des châtaignes. Notice pour le praticien, 38. Institut Fédéral de Recherches WSL, Birmensdorf.
- Rotundo, G., Giacometti, R., (1986). Realta e prospettive di lotta alle tortrici delle Castagne. *Informatore agraria*, 42 (41) : 69-72 p.
- Ruocco, M., Lanzuise, S., Lombardi, N., Varlese, R., Aliberti, A., Carpenito, S., Woo, S.L., Scala, F., Lorito, M., (2016). New tools to improve the shelf life of chestnut fruit during storage. *Acta Horticulturae*. 1144: 309-315 p.
- Sieber, N., Jermini, M., Conedera, M., (2007). Effects of the harvest method on the infestation of chestnuts (*Castanea sativa*) by insects and moulds. *J. Phytopathol.* 155: 497–504 p.

- Soria, J., Villagrán M., Del Tió R., Ocete, E., (1995). Incidencia de *Curculio elephas* (Gyllenhal) (Col.: Curculionidae) en alcornoques y encinares del parque natural Sierra Norte de Sevilla. Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas, 21: 195-201 p.
- Shahidi, F., Janitha, K., Wanasundara, D., (1992). Phenolic Antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 32: 67–103 p.
- Shuttleworth L, Guest DI, Liew, Y., (2012). *Gnomoniopsis smithogilvyi* L.A. Shuttleworth, E.C.Y. Liew & D.I. Guest, sp. nov. Fungal Planet description sheets: 107–127. Persoonia 28: 138–182 p.
- Sousa, R., Evangelista, M., Rodrigues, M., (2007). Identificação e monitorização de pragas e doenças em povoamentos florestais, Direcção Geral dos Recursos Florestais, Av. João Crisóstomo 28, 1069-040 p. Lisboa.
- Tallada, G., Wicklow, T., Pearson, C., Armstrong, R., (2011). Detection of fungus infected corn kernels using near infrared reflectance spectroscopy and color imaging. Trans. ASABE 54, 1151–1158 p.
- Vasconcelos, D., Bennett, B., Rosa, S., Cardoso, F.; (2007). Primary and secondary metabolite composition of kernels from three cultivars of Portuguese Food Bioscience 11 (2015) 33–42 41 chestnut (*Castanea sativa* Mill.) at different stages of industrial transformation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 3508–3516 p.
- Vaughan, A., (1997). The new Oxford book of food plants; Oxford University Press: New York, 1997.
- Vaughan, G.; Geissler, A., (1997). The new Oxford book of food plants; Oxford University Press: New York, 1997.
- Vázquez, G., Fernández, A., Gómez, C., Freire, S., Antorrena, G., González, J., (2012). Response surface optimization of antioxidants extraction from chestnut (*Castanea sativa*) bur. Industrial Crops and Products, 35(1): 126–134 p.
- Vettraino, M., Paolacci, A., Vannini, A., (2005). Endophytism of *Sclerotinia pseudotuberosa*: PCR assay for specie detection in chestnut tissue. Mycological Research, 109(1): 96-102 p.

- Vettraino, M., Paolacci, A., (2005). Endophytism of *Sclerotinia pseudotuberosa*: PCR assay for specific detection in chestnut tissues. *Mycol. Res.* 109: 96 - 102 p.
- Visentini, I., Cardinale, F., (2012). *Gnomoniopsis castanea* sp. nov. (*Gnomoniaceae*, *Diaporthales*) as the causal agent of nut rot in sweet chestnut. *Journal of Plant Pathology* (2012), 94 (2): 411-419 p.
- Wang, X., Li, C., Tang, S.; Tang, W., 2000. Mechanisms of chestnut rotting during storage. *HortScience* 35: 407 p. (abstract).
- Washington, S., Hood, V., Stewart, S., (1998). Effect of fungicides applied as foliar sprays and trunk injection on nut rot of chestnuts caused by *Phomopsis castanea* in Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 38: 295-303 p.
- Wells J.M., Payne, A., (1980). Mycoflora and market quality of chestnuts treated with hot water to control chestnut weevil. *Plant Disease*, 64: 999–1001 p.
- White, J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M., Gelfand, D., Shinsky, J., White, T. J. (ed) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, San Diego, 315-322 p.
- Yang, B., Jiang, G., Gu, C., Yang, H., Jiang, Y., (2010). Structural changes in polysaccharides isolated from chestnut (*Castanea mollissima* Bl.) fruit at different degrees of hardening. *Food Chemistry*, 119: 1211–1215 p.