

# QUITOSANA NO CONTROLE PÓS-COLHEITA DA PODRIDÃO MOLE EM CAQUI 'RAMA FORTE' <sup>(1)</sup>

PATRÍCIA CIA <sup>(2)</sup>; ELIANE APARECIDA BENATO <sup>(3)</sup>;  
SÉRGIO FLORENTINO PASCHOLATI <sup>(4,5)</sup>; ELY OLIVEIRA GARCIA <sup>(4,6)</sup>

## RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar o efeito da quitosana, aliada ao processo de destanização, no controle de *Rhizopus stolonifer* em caqui 'Rama Forte' e sobre o crescimento micelial do fungo *in vitro*. Caquis foram submetidos ao processo de destanização com CO<sub>2</sub> (70% / 18 horas), em tambores herméticos, sendo em seguida submetidos à inoculação com suspensão de esporos de *R. stolonifer* (3x10<sup>5</sup> esporos mL<sup>-1</sup>). Após inoculação, os frutos permaneceram por 2 horas a 25 °C, quando foram imersos em quitosana (0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0%), por 1 minuto. Os frutos foram mantidos a 25 °C / 80% UR e avaliados quanto à severidade e incidência da podridão mole, durante cinco dias. Após o período de armazenamento, avaliaram-se a coloração de casca, a firmeza e o índice de adstringência. *In vitro*, avaliou-se o crescimento micelial em placas contendo meio BDA incorporado com quitosana ou ácido cítrico. Os resultados mostraram que a quitosana, a 1,5%, reduz a severidade e a incidência da podridão mole em caquis e não influencia no processo de perda de adstringência, firmeza e na coloração de casca. *In vitro*, a quitosana inibe completamente o crescimento micelial de *R. stolonifer*, em concentração tão baixa quanto 0,5%.

**Palavras-chave:** *Diospyrus kaki*, *Rhizopus stolonifer*, controle alternativo, modificação da atmosfera.

## ABSTRACT

### CHITOSAN ON THE POSTHARVEST CONTROL OF SOFT ROT IN 'RAMA FORTE' PERSIMMON

The objective of this research was to evaluate the effect of chitosan in addition to de-astringency process on the control of *Rhizopus stolonifer* in 'Rama Forte' persimmon and on *in vitro* mycelial growth. Persimmon were submitted to de-astringency process using CO<sub>2</sub> (70% / 18 h), in hermetic chambers. Next, fruit were inoculated through subcuticular injections of a *R. stolonifer* spore suspension (3x10<sup>5</sup> spore mL<sup>-1</sup>) and 2 hours later at 25 °C immersed into chitosan (0, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0%), for 1 min. Fruit were stored at 25 °C / 80% RH, and checked for rot severity and incidence of soft rot, during 5-days of storage. After storage the skin color, firmness and astringency index were evaluated in persimmons. *In vitro*, mycelial growth was evaluated on PDA media emended with chitosan or citric acid. Chitosan 1.5% reduces severity and soft rot incidence and does not influence the astringency loss, firmness and skin color. *In vitro*, chitosan at concentration completely inhibited the *R. stolonifer* mycelial growth at concentration ≤ 0.5%.

**Key words:** *Diospyrus kaki*, *Rhizopus stolonifer*, alternative control, modified atmosphere.

<sup>(1)</sup> Recebido para publicação em 15 de setembro de 2009 e aceito em 26 de janeiro de 2010.

<sup>(2)</sup> Instituto Agronômico, Centro de Engenharia e Automação, Caixa Postal 26, 13201-970 Jundiaí (SP). E-mail: [pcia@iac.sp.gov.br](mailto:pcia@iac.sp.gov.br) (\*) Autora correspondente.

<sup>(3)</sup> Instituto de Tecnologia de Alimentos, Grupo de Engenharia e Pós-Colheita, Av. Brasil, 2880, 13070-178 Campinas (SP). E-mail: [benato@ital.sp.gov.br](mailto:benato@ital.sp.gov.br)

<sup>(4)</sup> ESALQ/USP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Setor de Fitopatologia, Caixa Postal 09, 13418-900 Piracicaba (SP). E-mail: [sfpascho@esalq.usp.br](mailto:sfpascho@esalq.usp.br)

<sup>(5)</sup> Bolsista de Produtividade em Pesquisa CNPq.

<sup>(6)</sup> Mestrando, Bolsista Fapesp.

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre as frutas que merecem destaque no mercado nacional, está o caqui. A produção mundial de caqui, em 2007, foi de 3,3 milhões de toneladas. A China é o maior produtor (2,3 milhões de t), seguida pela Coréia (345 mil t), Japão (240 mil t) e Brasil (168 mil t) (FAO, 2009). No Brasil, o Estado de São Paulo é o maior produtor, atendendo tanto o mercado interno como a exportação, em plena expansão. O Estado responde por aproximadamente 50% da produção nacional, atingindo em torno de 80,1 mil t (IBGE, 2007; ROCHA e BENATO, 2006).

As cultivares adstringentes de caqui, como Rama Forte, possuem, como principal característica, altos teores de taninos solúveis, responsáveis pela adstringência dos frutos (ITTAH, 1993; BIASI e GERHARDT, 1992). Dentre as técnicas que podem ser empregadas para a destanização de caquis, está a utilização de altas concentrações de CO<sub>2</sub>, a qual vem sendo empregada por outros países produtores, como Espanha e Israel, com a vantagem de manter a firmeza por período maior de tempo. No Brasil, poucos são os produtores de caqui que utilizam comercialmente esta técnica, sendo ainda empregados o álcool etílico e o etileno para a destanização. Apesar de eficientes na perda de adstringência, essas técnicas têm a desvantagem da rápida perda de firmeza, o que pode inviabilizar o armazenamento prolongado e a comercialização para mercados distantes. Segundo EDAGI e KLUGE (2009), o maior inconveniente de se acelerar o processo de amadurecimento, para promover a destanização dos frutos, é a diminuição da vida de prateleira do produto. Segundo os autores, o caqui é um fruto sensível ao etileno, com amadurecimento rápido, acompanhado por redução significativa na firmeza da polpa, tornando-se um fruto frágil e extremamente suscetível a danos mecânicos, o que dificulta o transporte e a comercialização.

Mesmo empregando-se alta concentração de CO<sub>2</sub> para a destanização, aliada a condições adequadas de armazenamento, não se obtém conservação satisfatória dos frutos por longo período, devido à perda de firmeza, ao escurecimento de casca e à incidência de podridões. Como alternativa, pode-se utilizar a atmosfera modificada (AM), que atua retardando o amadurecimento dos frutos. Como efeito benéfico adicional, a prevenção ou atraso do amadurecimento tem um efeito indireto no desenvolvimento de podridões (BARKAY-GOLAN, 2001). A AM pode ser gerada pela utilização de filmes flexíveis ou por produtos que possuem a capacidade de formar películas ao redor do produto, como as ceras e a quitosana. A quitosana, um polissacarídeo catiônico de alta massa molecular, solúvel em ácidos orgânicos, obtida pela deacetilação alcalina da quitina, pode ser usada como um revestimento para frutos (JIANG et al., 2005), podendo inibir o crescimento de alguns fungos, induzir o acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese e

eliciar a produção de fitoalexinas (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006). Além disso, devido a sua habilidade para formar um filme semipermeável, pode modificar a atmosfera e diminuir a taxa respiratória e a transpiração dos frutos (ZHANG e QUANTICK, 1997). Em razão de sua propriedade "filmogênica", a quitosana pode atuar como uma barreira à saída de nutrientes e, conseqüentemente, reduzir sua disponibilidade, restringindo o crescimento do patógeno (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006). EL GHAOUTH et al. (1997) relataram que a quitosana reduziu a produção de poligalacturonases por *Botrytis cinerea* nos tecidos de pimentão e a maceração dos componentes da parede celular do hospedeiro. Em lichias, a utilização de quitosana (1 g L<sup>-1</sup>), aliada ao armazenamento dos frutos sob condições de atmosfera modificada, reduziu a incidência de podridões, o escurecimento de casca e a taxa de respiração dos frutos (DE REUCK et al., 2009).

Entre os fungos que causam podridões pós-colheita em caqui estão *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Phoma* e *Rhizopus* (SNOWDON, 1990). No Brasil, a alta incidência de *R. stolonifer* em caquis, principalmente em condições de alta pluviosidade durante o período de desenvolvimento e maturação dos frutos, e de manuseio inadequado durante colheita e pós-colheita, pode ser um fator limitante para a comercialização dos frutos.

O uso de fungicidas em pós-colheita está cada vez mais limitado, em vista da crescente preocupação com a segurança ambiental e a procura por alimentos mais seguros, além da retirada de vários produtos do mercado. Além disso, atualmente, não existe registro de defensivos para uso em pós-colheita de caquis. Deste modo, vários métodos alternativos de controle de doenças vêm sendo estudados.

O objetivo deste trabalho foi testar a hipótese que a quitosana pode atuar positivamente no controle de *R. stolonifer* em caqui 'Rama Forte', devido a sua habilidade para formar um filme semipermeável ao redor dos frutos, atrasando os processos de amadurecimento e senescência e, conseqüentemente, dificultando o desenvolvimento do patógeno. Além disso, a quitosana pode atuar diretamente sobre o crescimento de fungos. Assim, avaliaram-se os efeitos da quitosana, aliada ao processo de destanização de caquis, no controle de *R. stolonifer* e sobre o crescimento micelial do fungo *in vitro*. O efeito do produto sobre a firmeza, a adstringência e a coloração da casca de caquis também foi investigado.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Inóculo

*Rhizopus stolonifer*, causador da podridão mole, foi isolado a partir de caquis 'Rama Forte' proveniente

da região de Jundiá (SP), tendo sido cultivado em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) acrescido de oxitetraciclina (50 mg mL<sup>-1</sup>), pelo período de dois dias em incubadora B.O.D., a 25 °C, com alternância de luz de 12 horas. O inóculo foi preparado com a adição de água destilada esterilizada sobre a colônia do fungo, fazendo-se a raspagem superficial com auxílio de uma alça de Drigalsky. A suspensão foi filtrada em gaze e a contagem foi realizada em hemacitômetro, ajustando-se para 10<sup>5</sup> esporos mL<sup>-1</sup>. Adicionou-se Tween20 à suspensão de esporos, na proporção de uma gota para 100 mL.

#### Inoculação e tratamento dos frutos

Para a avaliação dos efeitos da quitosana sobre o desenvolvimento *in vivo* de *R. stolonifer* em caqui 'Rama Forte', frutos provenientes de Jundiá (SP) foram selecionados quanto à uniformidade de coloração, ausência de defeitos e podridões. Em seguida, foram expostos a 70% de CO<sub>2</sub> por 18 horas, em tambores herméticos de 200 L, com circulação de ar, sob a temperatura de 25 °C ± 2 °C. A concentração de CO<sub>2</sub> no interior dos tambores foi monitorada com auxílio de um analisador de gases PBI Dansensor. Após este período, os frutos foram submetidos à inoculação com suspensão de esporos de *R. stolonifer* (3x10<sup>5</sup> esporos mL<sup>-1</sup>), através de injeção subcuticular de 10 µL da suspensão (± 2 mm de profundidade), com auxílio de uma seringa de cromatografia, em dois pontos opostos na região equatorial.

Após a inoculação, os frutos permaneceram por 2 horas a 25 °C, sendo, em seguida, imersos pelo período de 1 minuto em soluções de quitosana em diferentes concentrações (0; 0,5%; 1%; 1,5% e 2%), obtidas através da diluição do produto em água destilada. Como testemunha, utilizaram-se frutos somente expostos ao CO<sub>2</sub>. A quitosana foi obtida junto a Cyrbe Ltda., Sumaré (SP), na concentração de 10%, diluída em ácido cítrico. Após a secagem, os frutos foram acondicionados em caixas de papelão e mantidos a 25 °C ± 2 °C / 80 ± 5% UR, pelo período de cinco dias, sendo avaliados aos dois e cinco dias quanto à incidência (porcentagem de frutos doentes) e severidade da podridão (escala de notas: 0 = ausência de sintomas; 1 = 1% a 25% de área lesionada; 2 = 26% a 50%; 3 = 51% a 75%; 4 = 76% a 100%). Os resultados foram expressos em índice de doença através da fórmula:

$$ID(\%) = \frac{[(1.n_1) + (2.n_2) + (3.n_3) + (4.n_4)]100}{4.N}$$

sendo: ID: Índice de doença;  $n_i$ : número de frutos infectados na respectiva escala de notas; N: número total de frutos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições compostas por

quatro frutos como unidade experimental, sendo os ensaios repetidos por duas vezes, utilizando-se frutos provenientes de diferentes produtores. Após cinco dias de armazenamento, cinco frutos de cada tratamento foram também avaliados quanto à coloração da casca, firmeza e ao índice de adstringência, segundo os métodos abaixo descritos.

**Cor de casca:** em colorímetro Minolta, modelo Chroma meter CR 300, sistema *L C H* com quatro leituras por fruto, onde *L* representa luminosidade, *C* cromaticidade e *H*, o ângulo de cor (ângulo *Hue*).

**Firmeza:** em texturômetro TA-xT2i, utilizando-se ponteira de 8 mm, profundidade e velocidade de penetração de 10 mm e 1 mm/s, respectivamente, efetuando-se a leitura em dois pontos opostos na região equatorial dos frutos, após a retirada da casca.

**Índice de adstringência:** através da impressão do fruto em papel filtro previamente imerso em solução de cloreto férrico (5%). O índice de adstringência foi obtido pela comparação com escala de notas (1 = não adstringente; 2 = ligeiramente a não adstringente; 3 = moderadamente adstringente; 4 = adstringente; 5 = muito adstringente), segundo metodologia de GAZIT e LEVY (1963).

#### Avaliação de quitosana sobre o desenvolvimento *in vitro* de *Rhizopus stolonifer*

O efeito de diferentes concentrações de quitosana sobre o crescimento micelial de *R. stolonifer* foi avaliado por meio da transferência de discos de micélio (5 mm diâmetro), obtidos a partir de placas com a cultura do fungo, com dois dias de idade, para o centro de placas contendo BDA incorporado com diferentes concentrações de quitosana (0; 0,25%; 0,5% e 1,0%). Além da quitosana, outros dois tratamentos consistiram da incorporação de ácido cítrico (0,5% e 1,0%) ao meio de cultura. O produto foi autoclavado antes de sua incorporação ao BDA fundente. As placas foram mantidas a 25 °C e avaliadas diariamente pela medição do diâmetro da colônia em duas direções diametralmente opostas até que o micélio de um dos tratamentos atingisse a borda da placa. Foram utilizadas seis placas por tratamento, sendo uma placa como unidade experimental.

#### Análise estatística

Os resultados dos experimentos foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, em delineamento inteiramente casualizado, sendo discutidos a 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quitosana, principalmente a 1,5%, foi eficaz em reduzir o índice de doença e a incidência de *R.*

*stolonifer* nos frutos (Tabelas 1 e 2). Observa-se que tanto no primeiro quanto no segundo experimento, o produto atrasou o progresso da doença em caquis. No primeiro ensaio, constatou-se que a quitosana, a 1,5%, reduziu o índice de doença nos frutos no 2.º e 5.º dias de avaliação e a incidência da podridão mole, somente no 2º dia. O produto reduziu o índice de doença em aproximadamente 75% e 50% no 2.º e 5.º dias de armazenamento, respectivamente, e em 75% a incidência da podridão mole (Tabela 1). No segundo ensaio (Tabela 2), verificou-se que a quitosana, nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 1,5%, foi efetiva na redução do índice de doença em caquis somente no 5.º dia de avaliação; o índice de doença nos frutos foi aproximadamente 40% menor para os caquis tratados nestas concentrações. Quanto à incidência, a quitosana não reduziu o aparecimento de lesões nos frutos.

Vários trabalhos indicam que a quitosana controla efetivamente as podridões pós-colheita durante o armazenamento, atrasa o início e reduz o processo de infecção. Geralmente, a redução de podridões é maior com o aumento da concentração de quitosana. Em alguns trabalhos, a efetividade da quitosana foi equivalente à de fungicidas sintéticos, como o tiabendazol (EL GHAOUTH et al., 1991). Por outro lado, ZHANG e QUANTICK (1997) relataram que a quitosana nem sempre é tão ou mais efetiva que os fungicidas sintéticos, como observado em lichias, em que o produto atrasou o processo de infecção

durante 33 dias de armazenamento, mas não foi tão efetivo quanto o tiabendazol no controle de podridões.

EL-GHAOUTH et al. (1992a) relataram que a quitosana reduziu as podridões em morangos, causadas por *B. cinerea* e *R. stolonifer*, e concluíram que o mecanismo pelo qual a quitosana reduz podridões em morangos parece estar relacionado à sua propriedade fungistática e não à indução de resistência. Quando testada *in vitro*, inibiu os dois patógenos, mas não completamente. Os mesmos autores observaram que a quitosana alterou bruscamente a morfologia das hifas de *R. stolonifer*. Observações realizadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* e *R. stolonifer* tratados com quitosana revelaram uma excessiva ramificação do micélio, formatos anormais, inchamento e redução do tamanho das hifas (BENHAMOU, 1992; EL GHAOUTH et al., 1992b).

Por outro lado, em estudos demonstraram que, em alguns frutos, a quitosana propicia um efeito mais preventivo que curativo. BAUTISTA-BAÑOS et al. (2003) constataram que a quitosana, nas concentrações de 2% e 3%, exerceu efeito fungicida sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, notando-se mudanças na morfologia dos conídios na concentração de 1,5%. *In vivo*, o controle da antracnose em mamão foi obtido com a aplicação de quitosana a 1,5% antes da inoculação do patógeno. Em uvas, a quitosana aumentou a atividade

**Tabela 1.** Índice de doença (ID) e incidência (INC) de *Rhizopus stolonifer* em caquis 'Rama Forte' tratados em pós-colheita com diferentes concentrações de quitosana e armazenados a 25 °C ± 2 °C / 80 ± 5% UR, por até cinco dias. Ensaio I

Quitosana (%)	2 Dias		5 Dias	
	ID	INC	ID	INC
0 (testemunha)	16,0 a	80,0 a	52,7 a	86,0 a
0,5	12,0 ab	60,0 ab	42,0 ab	66,0 a
1,0	8,0 bc	40,0 bc	40,7 ab	66,0 a
1,5	4,0 c	20,0 c	27,3 b	66,0 a
2,0	8,0 bc	40,0 bc	26,7 b	60,0 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si (Tukey=0,05).

**Tabela 2.** Índice de doença (ID) e incidência (INC) de *Rhizopus stolonifer* em caquis 'Rama Forte' tratados em pós-colheita com diferentes concentrações de quitosana e armazenados a 25 °C ± 2 °C / 80 ± 5% UR, por até cinco dias. Ensaio II

Quitosana (%)	2 Dias		5 Dias	
	ID	INC	ID	INC
0 (testemunha)	14,0 a	70,0 a	41,0 a	95,0 a
0,5	12,2 a	62,0 a	25,6 b	85,0 a
1,0	13,3 a	68,0 a	26,1 b	85,0 a
1,5	10,0 a	50,0 a	26,7 b	95,0 a
2,0	11,7 a	60,0 a	32,4 ab	95,0 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si (Tukey=0,05).

da fenilalanina amônia-liase, uma enzima-chave da via dos fenilpropanóides (ROMANAZZI et al., 2002). Em maçãs submetidas à inoculação, a quitosana, a 1% e 2%, foi efetiva na redução de *Penicillium expansum* durante armazenamento controlado (CAPDEVILLE et al., 2002).

Os resultados relativos aos efeitos da quitosana sobre a coloração de casca, firmeza e índice de adstringência revelaram que o produto não alterou os parâmetros *L* (luminosidade), *C* (cromaticidade) e *Hue* (ângulo de cor) da cor de casca dos frutos, em ambos os ensaios (Tabelas 3 e 4). Observou-se ainda que houve pouca alteração da coloração de casca após período de armazenamento dos frutos sob condições ambiente, quando comparados aos valores iniciais, ou seja, no

Ensaio I os frutos tinham coloração laranja-avermelhada no início dos experimentos passando a avermelhada mais intensa após período de armazenamento, enquanto os frutos pertencentes ao Ensaio II tinham coloração laranja-amarelada, no início do experimento, passando a laranja intenso após período de armazenamento. Por outro lado, no Experimento I, constatou-se redução na firmeza dos frutos expostos ao CO<sub>2</sub> e tratados ou não com quitosana, diferindo significativamente dos frutos testemunha após período de armazenamento. No Ensaio II, observou-se, de maneira geral, ligeira queda de firmeza após o período de armazenamento dos frutos, não havendo diferenças significativas entre os frutos testemunha e tratados com quitosana. Os frutos que

**Tabela 3.** Cor de casca, firmeza e índice de adstringência em caquis 'Rama Forte' tratados com diferentes concentrações de quitosana, após cinco dias de armazenamento a 25±2 °C / 80±5% UR. Experimento I

Tratamento	Cor de casca (²)			Firmeza	Índice de Adstringência (³)
	<i>L</i>	<i>C</i>	<i>Hue</i>	N	
Dia 0 (testemunha)	54,07	48,24	42,34	31,96	4,20
CO <sub>2</sub> - 70% / 18 h	53,68	50,74	39,86	23,87	4,10
Testemunha (¹)	54,04 a	47,70 a	41,98 a	22,72 a	4,80 a
CO <sub>2</sub> (70% / 18 h)	49,11 a	37,07 a	39,34 a	4,82 b	1,00 d
CO <sub>2</sub> + Quitosana (0,5%)	47,25 a	36,35 a	34,24 a	5,81 b	1,56 b
CO <sub>2</sub> + Quitosana (1%)	48,72 a	38,06 a	36,60 a	8,47 b	1,26 bcd
CO <sub>2</sub> + Quitosana (1,5%)	49,63 a	37,77 a	38,90 a	10,40 b	1,10 cd
CO <sub>2</sub> + Quitosana (2%)	48,06 a	36,49 a	35,44 a	5,92 b	1,52 bc

Média de cinco frutos por tratamento.

(¹) Frutos não expostos ao CO<sub>2</sub> e não tratados com quitosana.

(²) Em colorímetro Minolta, CR 300, onde *L* representa a luminosidade, *C* (cromaticidade) e *H* (ângulo de cor, *Hue*).

(³) Índice de adstringência, segundo escala de notas: 1 = não adstringente, 2 = ligeiramente a não adstringente, 3 = moderadamente adstringente, 4 = adstringente e 5 = muito adstringente.

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si (Tukey = 0,05).

**Tabela 4.** Cor de casca, firmeza e índice de adstringência em caquis 'Rama Forte' tratados com diferentes concentrações de quitosana, após cinco dias de armazenamento a 25±2 °C / 80±5% UR. Experimento II

Tratamento	Cor de casca (²)			Firmeza	Índice de Adstringência (³)
	<i>L</i>	<i>C</i>	<i>Hue</i>	N	
Dia 0 (testemunha)	56,74	46,06	49,44	34,38	3,85
CO <sub>2</sub> - 70% / 18 h	56,16	47,13	46,46	25,33	3,80
Testemunha (¹)	56,10 a	47,26 a	47,20 a	26,34 a	3,90 a
CO <sub>2</sub> (70% / 18 h)	55,82 a	48,08 a	46,56 a	21,60 a	1,74 b
CO <sub>2</sub> + Quitosana (0,5%)	56,40 a	48,48 a	47,04 a	25,93 a	1,24 b
CO <sub>2</sub> + Quitosana (1%)	55,90 a	47,86 a	44,34 a	25,66 a	1,98 b
CO <sub>2</sub> + Quitosana (1,5%)	56,90 a	48,22 a	46,10 a	34,32 a	1,40 b
CO <sub>2</sub> + Quitosana (2%)	57,38 a	49,44 a	48,14 a	33,60 a	1,20 b

Média de cinco frutos por tratamento.

(¹) Frutos não expostos ao CO<sub>2</sub> e não tratados com quitosana.

(²) Em colorímetro Minolta, CR 300, onde *L* representa a luminosidade, *C* (cromaticidade) e *H* (ângulo de cor, *Hue*).

(³) Índice de adstringência, segundo escala de notas: 1 = não adstringente, 2 = ligeiramente a não adstringente, 3 = moderadamente adstringente, 4 = adstringente e 5 = muito adstringente.

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si (Tukey = 0,05).

passaram pelo tratamento com CO<sub>2</sub> e, posteriormente, foram tratados com diferentes concentrações de quitosana, também perderam adstringência de forma significativa; após cinco dias de armazenamento, os índices variaram de 1,56 a 1,00, no Experimento I (Tabela 3), e de 1,98 a 1,20, no Experimento II (Tabela 4), ou seja, de ligeiramente adstringente a não-adstringente.

Segundo NUNES et al. (2006), citados por EDAGI e KLUGE (2009), o tratamento de caquis 'Rama Forte', de coloração verde, com CO<sub>2</sub> (70%), durante 12 e 18 horas, tiveram maior facilidade de destanização com relação a caquis de coloração laranja e vermelha. Além de menor eficiência de destanização, caquis de coloração avermelhada apresentaram queda de firmeza muito mais rápida, inviabilizando sua comercialização em poucos dias após a aplicação dos tratamentos. Resultados semelhantes foram obtidos neste experimento, constatando-se que caquis com coloração mais avermelhada (Ensaio I) perderam firmeza de maneira mais acentuada quando comparados aos frutos do Ensaio II.

Estudos demonstraram que a quitosana tem potencial para prolongar o período de armazenamento e controlar doenças em diversas frutas, tais como morangos, pêssegos e uvas. EL GHAOUTH et al. (1991) constataram que a aplicação de quitosana (1% ou 1,5%) reduziu significativamente a podridão de *B. cinerea* em morangos, induzindo a atividade de quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase, além de manter os frutos mais firmes e diminuir a taxa de respiração. ROMANAZZI et al. (2002) relataram que o tratamento de uvas com quitosana (0,1%; 0,5% e 1%) reduziu a severidade e a incidência do mofo cinzento. Em pêssegos, a quitosana a 1% reduziu a incidência de podridões durante o período de armazenamento dos frutos (SANTOS et al., 2008).

Pode-se observar pela tabela 5 que a quitosana, mesmo em concentrações baixas (0,5%), inibiu completamente o crescimento micelial de *R. stolonifer*. Nota-se ainda que, quando na presença do ácido cítrico, tanto a 0,5% quanto a 1,0%, o *R. stolonifer* se

desenvolveu, mesmo que lentamente. Assim, o efeito da quitosana sobre o crescimento micelial de *R. stolonifer* não se deve somente à presença do ácido cítrico em sua formulação.

Há fortes evidências que o crescimento micelial pode ser inibido ou retardado quando ao meio de crescimento do fungo for adicionado quitosana. HERNÁNDEZ-LAUZARO et al. (2008) constataram que a quitosana de baixa massa molecular foi mais efetiva na redução do crescimento micelial de *R. stolonifer*, enquanto a quitosana de alta massa molecular afetou o formato do esporo, a germinação e a esporulação do fungo. Posteriormente, GUERRA-SÁNCHEZ et al. (2009) relataram que a quitosana, de diferentes massas moleculares, inibiu o crescimento micelial de três diferentes isolados de *R. stolonifer*. EL GHAOUTH et al. (1992b) observaram que o aumento na concentração de quitosana de 0,75 a 6 mg mL<sup>-1</sup> causou diminuição no crescimento radial de *Alternaria alternata*, *B. cinerea*, *C. gloeosporioides* e *R. stolonifer*. Embora os efeitos da quitosana sobre o desenvolvimento de muitos fungos sejam conhecidos, os mecanismos que explicam sua ação antifúngica ainda não foram completamente elucidados. EL-GHAOUTH et al. (1992a) observaram que a quitosana alterou bruscamente a morfologia das hifas de *R. stolonifer*. No entanto, essas alterações não foram observadas com o *B. cinerea*, indicando que os efeitos da quitosana podem variar com o fungo.

Nota-se, portanto, que a quitosana pode atuar diretamente no controle de patógenos, podendo também controlar algumas doenças indiretamente através do atraso no processo de amadurecimento dos frutos, ou pela indução de respostas de resistência. A habilidade da quitosana em propiciar condições de atmosfera modificada por formar um filme semipermeável ao redor do fruto e então atrasar o processo de amadurecimento pode estar relacionada à ação do produto sobre a parede celular do hospedeiro. Durante o processo de amadurecimento, as substâncias pécticas

**Tabela 5.** Diâmetro da colônia (cm) de *Rhizopus stolonifer* cultivado em BDA incorporado com diferentes concentrações de quitosana ou ácido cítrico

Tratamento	Diâmetro da colônia (cm) (1)		
	12 h	24 h	36 h
Testemunha	3,56 a	6,07 a	8,60 a
Quitosana (0,25%)	0,00 d	0,03 d	0,05 d
Quitosana (0,5%)	0,00 d	0,00 d	0,00 d
Quitosana (1%)	0,00 d	0,00 d	0,00 d
Ác. cítrico (0,5%)	2,38 b	3,45 b	5,88 b
Ác. cítrico (1%)	1,18 c	2,03 c	3,17 c

(1) Média de seis placas por tratamento.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si (Tukey=0,05).

da lamela média que se encontram na forma insolúvel, ou seja, protopectina, tornam-se mais solúveis e os tecidos perdem firmeza. O aumento da solubilidade de substâncias pécticas e consequente amolecimento dos tecidos acarretam maior suscetibilidade destes à maceração promovida pelas enzimas pectolíticas liberadas pelo patógeno. Desta forma, a atmosfera modificada pode reduzir as alterações nos compostos pécticos e manter a firmeza dos frutos por mais tempo, reduzindo sua vulnerabilidade ao ataque de patógenos (BARKAI-GOLAN, 2001).

#### 4. CONCLUSÕES

1. A quitosana, a 1,5%, aplicada após processo de destanização, reduz o desenvolvimento de *Rhizopus stolonifer* em caquis 'Rama Forte', não influencia negativamente na perda de adstringência e não altera a coloração de casca e a firmeza dos frutos.

*In vitro*, a quitosana inibe completamente o desenvolvimento de *Rhizopus stolonifer*.

#### REFERÊNCIAS

- BARKAY-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control**. Amsterdam: Elsevier, 2001. 417p.
- BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N.; VELÁZQUEZ-DEL VALLE, M.G.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; AIT BARKA, E.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, v.25, p.108-118, 2006.
- BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LOPEZ, M.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. **Crop Protection**, v.22, p.1087-1092, 2003.
- BENHAMOU, N. Ultrastructural and cytochemical aspects of chitosan on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, agent of tomato crown and root rot. **Phytopathology**, v.82, p.1185-1193, 1992.
- BIASI, L.A., GERHARDT, I.R. Efeito da aplicação de vinagre, álcool e ethephon na destanização de caquis cv. Okira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.14, p.31-36, 1992.
- CAPDEVILLE, G.; WILSON, C.L.; BEER, S.V.; AIST, J.R. Alternative disease control agents induce resistance to blue mould in harvest 'Red Delicious' apple fruit. **Phytopathology**, v.92, p.900-908, 2002.
- DE REUCK, K.; SIVAKUMAR, D.; KORSTEN, L. Effect of integrated application of chitosan coating and modified atmosphere packaging on overall quality retention in litchi cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.89, p.915-920, 2009.
- EDAGI, F.K.; KLUGE, R.A. Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. **Ciência Rural**, v.39, p.585-594, 2009.
- EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; WILSON, C.; BENHAMOU, N. Biochemical and cytochemical aspects of the interactions of chitosan and *Botrytis cinerea* in bell pepper fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.12, p.183-194, 1997.
- EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; GRENIER, J.; ASSELIN, A. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopathology**, v.82, p.398-402, 1992a.
- EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; ASSELIN, A.; BENHAMOU, N. Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological alterations in *Rhizopus stolonifer*. **Mycological Research**, v.96, p.769-779, 1992b.
- EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; PONNAMPALAM, R.; BOULET, M. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. **Journal of Food Science**, v.56, p. 1618-1620, 1991.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **Statistical database**. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org>>. Acesso em: 3 mar 2009.
- GAZIT, S.; LEVY, Y. Astringency and its removal in persimmon. **Israel Journal of Agricultural Research**, v.13, p.125-132, 1963.
- GUERRA-SÁNCHEZ, M.G.; VEGA-PÉREZ, J.; VELÁZQUEZ-DEL VALLE, M.G.; HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N. Antifungal activity and release of compounds on *Rhizopus stolonifer* (Ehreb.:Fr.) Vuill. by effect of chitosan with different molecular weights. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.93, p.18-22, 2009.
- HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; VELÁZQUEZ-DEL VALLE, M.G.; MÉNDEZ-MONTEALVO, M.G.; SÁNCHEZ-RIVERA, M.M.; BELLO-PÉREZ, L.A. Antifungal effects of chitosan with different molecular weights on *in vitro* development of *Rhizopus stolonifer* (Ehreb.:Fr.) Vuill. **Carbohydrate Polymers**, v.73, p.541-547, 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Produção Agrícola Municipal**. Rio de Janeiro, 2007. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 3 mar 2009.
- ITTAH, Y. Sugar content changes in persimmon fruits (*Diospyros kaki* L.) during artificial ripening with CO<sub>2</sub>: a possible connection to deastringency mechanisms. **Food Chemistry**, v.48, p.25-29, 1993.
- JIANG, Y.; LI, J.; JIANG, W. Effects of chitosan coating on shelf life of cold-stored litchi fruit at ambient temperature. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 38, p.757-761, 2005.

ROCHA, P.; BENATO, E.A. Sistema produtivo e pós-colheita do caqui Rama Forte e Fuyu. **Informações Econômicas**, v.36, p.58-64, 2006.

RONANAZZI, G.; NIGRO, F.; IPPOLITO, A.; VENERE, Di.; SALERNO, M. Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage gray mould of table grapes. **Journal of Food Science**, v.67, p.1862-1867, 2002.

SANTOS, C.A.A.; CASTRO, J.V.de; PICOLI, A.A.; ROLIM, G.S. Uso de quitosana e embalagem plástica na conservação pós-colheita de pêssegos 'Douradão'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.88-93, 2008.

SNOWDON, A.L. **A color atlas postharvest diseases and disorders of fruit and vegetables**: general introduction and fruits. London: Wolfe Scientific, 1990. 302p.

ZHANG, D.; QUANTI, P.C. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.12, p.195-202, 1997.