

QUITOSANA NO CONTROLE PÓS-COLHEITA DA PODRIDÃO MOLE EM CAQUI 'RAMA FORTE' (1)

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

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 CO₂ (70% / 18 horas), em tambores herméticos, sendo em seguida submetidos à inoculação com suspensão de esporos de *R. stolonifer* (3x10⁵ esporos mL⁻¹). 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 CO₂ (70% / 18 h), in hermetic chambers. Next, fruit were inoculated through subcuticular injections of a *R. stolonifer* spore suspension (3x10⁵ spore mL⁻¹) 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.

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

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

(3) 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

(4) 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

(5) Bolsista de Produtividade em Pesquisa CNPq.

(6) 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 CO₂, 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 CO₂ 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⁻¹), 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⁻¹), 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 10⁵ esporos mL⁻¹. 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 CO₂ por 18 horas, em tambores herméticos de 200 L, com circulação de ar, sob a temperatura de 25 °C ± 2 °C. A concentração de CO₂ 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* (3x10⁵ esporos mL⁻¹), 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 CO₂. 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 CO₂ 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 ₂ - 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 ₂ (70% / 18 h)	49,11 a	37,07 a	39,34 a	4,82 b	1,00 d
CO ₂ + Quitosana (0,5%)	47,25 a	36,35 a	34,24 a	5,81 b	1,56 b
CO ₂ + Quitosana (1%)	48,72 a	38,06 a	36,60 a	8,47 b	1,26 bcd
CO ₂ + Quitosana (1,5%)	49,63 a	37,77 a	38,90 a	10,40 b	1,10 cd
CO ₂ + 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 CO₂ 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 ₂ - 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 ₂ (70% / 18 h)	55,82 a	48,08 a	46,56 a	21,60 a	1,74 b
CO ₂ + Quitosana (0,5%)	56,40 a	48,48 a	47,04 a	25,93 a	1,24 b
CO ₂ + Quitosana (1%)	55,90 a	47,86 a	44,34 a	25,66 a	1,98 b
CO ₂ + Quitosana (1,5%)	56,90 a	48,22 a	46,10 a	34,32 a	1,40 b
CO ₂ + 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 CO₂ 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 CO₂ 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 CO₂ (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 β -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⁻¹ 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 CO₂: 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.