

PERSPECTIVAS PARA O USO DA QUITOSANA NA AGRICULTURA

Lucia R. Ramos Berger¹, Thayza Ch. Montenegro Stamford^{2*}, Newton Pereira Stamford¹

1) Pós-graduação em Microbiologia dos Solos, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, Brasil

2) Departamento de Fisiologia e Patologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.
Correio eletrônico: thayza.stamford@pq.cnpq.br

Recibido: Febrero 2011; Aceptado: Junio 2011

RESUMO

A fertilização adequada e o controle eficiente das pragas na agricultura são necessários para obter uma alta qualidade de produtividade agrícola. Contudo, a aplicação indiscriminada de pesticidas químicos nas plantações pode ocasionar poluição no meio ambiente, desenvolver resistência por parte dos microrganismos fitopatógenos e causar danos à saúde humana. A prática do biocontrole de doenças nos vegetais mostra-se uma alternativa ecologicamente viável em relação ao método químico tradicional. Entre os produtos estudados para biocontrole destaca-se o polissacarídeo quitosana encontrada naturalmente na parede celular de fungos, principalmente da classe *Zygomycetes*. Esse polímero é comercialmente obtido da desacetilação da quitina, presente como elemento estrutural nos invertebrados, e no exoesqueleto da maioria dos artrópodes. A quitosana apresenta biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade, alta bioatividade e atividade antimicrobianas. A natureza policatiónica do biopolímero é responsável por suas propriedades funcionais. Pesquisas na área de agronomia demonstram possíveis aplicações da quitosana e de seus derivados em diferentes situações, tais como: no biocontrole de microrganismos fitopatógenos durante a pré e pós colheita, na indução de resistência em plantas, na liberação controlada de fertilizantes agroquímicos, no favorecimento da produção vegetal e na fixação biológica de nitrogênio. Esse trabalho trata dos estudos e pesquisas realizados sobre as aplicações e perspectivas da utilização da quitosana na agronomia.

Palavras-chaves: Polímero, antimicrobiano, biocontrole, agricultura.

ABSTRACT

An adequate fertilization and a program of pest controls are necessary to achieve high-quality productivity in agriculture. However, the indiscriminate application of chemical pesticides in cultures may cause environmental pollution, development of resistance by pathogens and harm to human health. The biocontrol of the pathogens can be an alternative less prejudicial solution to environment in contrast to other conventional methods. The chitosan is a polysaccharide naturally found in cell wall of fungi, mainly of the class *Zygomycetes*, which can be used in biocontrol. The commercially available chitosan is obtained by chemical deacetylation of crustacean chitin present as a structural element in invertebrates and in the exoskeleton of most arthropods. Chitosan is biocompatible, biodegradable, has low toxicity, high bioactivity and antimicrobial activity. The polycationic characteristics result in its functional properties. Research in agronomy demonstrate possible applications of chitosan and its derivatives in different situations such as biocontrol of phytopathogenic microorganisms during pre and post harvest, to induce resistance in plants, to control the release of agrochemicals fertilizers, to increase crop production and biological nitrogen fixation. This paper deals with studies and research on the applications and perspectives on the use of chitosan in agronomy.

Keywords: Polymer, antimicrobial, biocontrol, agriculture.

INTRODUÇÃO

A qualidade e o rendimento da produção agrícola em um país podem ser seriamente prejudicados pela ausência de fertilização [1], ou seja, um adequado suprimento de nutrientes é essencial para se obter um bom desenvolvimento das plantas [2]. Primavesi [3] afirma que uma boa produção agrícola é alcançada através de um equilíbrio ótimo entre fotossíntese e respiração, sendo para isto necessária uma adubação mineral equilibrada. Outro fator a ser considerado na agricultura

é a presença de pragas nas plantações. Entre as alternativas para o controle deste problema tem sido utilizadas substâncias químicas como, por exemplo, o inseticida 2,2-di(-clorofenil)- 1,1,1-tricloroetano (DDT), o primeiro a ser usado, aplicado a partir da década de 30. Entretanto, essa prática intensiva na agricultura ocasiona sérios problemas no meio ambiente e conseqüentemente à saúde humana, uma vez que a maioria dos pesticidas químicos são altamente tóxicos e não são seletivos, eliminando, indiscriminadamente, organismos que são úteis ao ecossistema [4]. No meio ambiente essas substâncias químicas dissolvidas nas águas de irrigação e/ou chuvas alcançam o solo e podem ser degradadas pela luz e calor, interagir com outras partículas ou com a biota do solo, e assim ser levadas até os rios, lençóis freáticos, contaminando várias fontes de água [5].

Os métodos biológicos, ou seja, o uso de compostos naturais ou biodegradáveis, podem se constituir alternativas viáveis em relação ao método químico tradicional, principalmente por não contaminarem o ambiente e não deixarem nos produtos tratados resíduos tóxicos prejudiciais ao homem e aos animais [6,7]. O biocontrole é caracterizado como o uso de organismos e/ou de seus produtos derivados ou metabólitos para prevenção de doenças em vegetais. Esse método, ecologicamente viável e normalmente seguro, tem efeito fungistático, induz a resistência natural das plantas e pode prover proteção por um longo prazo para a cultura. Dessa forma, é um recurso alternativo para o biocontrole de fungos fitopatogênicos [8,9].

Alguns agentes empregados no processo de biocontrole tem se mostrado eficientes como alternativas a fungicidas sintéticos, na prevenção da deterioração pós-colheita de vegetais, a citar compostos de aroma [10], ácido acético [11,12], glucosinolatos [13], própolis [14], óleos essenciais [15], extratos vegetais [16,17] e quitosana [18,19].

Os polímeros naturais apresentam ampla aplicabilidade em diversas áreas de estudo devido a sua fácil obtenção e as suas propriedades, tais como biocompatibilidade e biodegradabilidade. Entre estes polímeros destacam-se a quitina e a quitosana [20]. A quitina é um biopolímero formado por unidades monoméricas repetidas de β -1,4-N-acetilglucosamina e, após a celulose, é considerada o biopolímero mais abundante e largamente distribuído na natureza, estando presente como elemento estrutural em animais invertebrados, na maioria dos artrópodes e na parede celular de fungos, principalmente os da classe *Zygomycetes*, ordem Mucorales [21, 22, 23]. Este polissacarídeo natural possui uma estrutura cristalina altamente organizada, comprovada por difração de raios-X. A quitina é insolúvel em meio aquoso e na maioria dos solventes orgânicos, tem baixa reatividade química e não é digerível por animais vertebrados [24].

A quitosana é um polímero de D-glucosamina, derivada da desacetilização da quitina, sendo encontrada naturalmente na parede celular de fungos, principalmente aqueles da classe *Zygomycetes* [25, 26], que podem apresentar até 50% deste na sua estrutura [27]. Esse polissacarídeo é solúvel

em soluções aquosas, diluídas de ácidos orgânicos e inorgânicos e apresenta: uma excelente biocompatibilidade; quase nenhuma toxicidade ao ser humano e animais; alta bioatividade; biodegradabilidade; reatividade do grupo amino desacetilado; permeabilidade seletiva; ação polieletrólítica; atividade antimicrobiana; habilidade em formar gel e filme; habilidade de quelação e capacidade adsorptiva [28-30].

Atualmente, as fontes de onde tem se obtido quitina e quitosana exploradas a nível comercial tem sido a carapaça de caranguejos e cascas de camarão, oriundas de resíduos da indústria pesqueira que processa estes crustáceos [25, 31]. Entretanto, existem algumas limitações à utilização desses recursos tais como: necessidade de ser bem triturado para obtenção de um fino pó; utilização de soluções alcalinas fortes para realizar a desacetilação da quitina que podem poluir o meio ambiente; dificuldade de adaptação das espécies de crustáceo a um determinado ambiente e possibilidade de os resíduos de proteínas causarem reações alérgicas [32, 33].

A produção de quitina e quitosana, a partir da biomassa micelial de fungos da ordem Mucorales, pode ser uma alternativa, uma vez que é um processo fácil e economicamente viável, podendo-se efetuar a extração simultânea de quitina e quitosana. Além disso, esses biopolímeros obtidos não apresentam contaminação por proteínas e o cultivo do fungo é independente dos fatores de sazonalidade, pode ser realizado em larga escala, com fácil controle do pH e da concentração de nutrientes no meio fermentativo [21, 26, 34].

Devido as suas propriedades, a quitosana vem sendo utilizada na preservação de alimentos [36-38]; na indústria farmacêutica, no clareamento de sucos, na fabricação de embalagens [37, 38], na biorremediação por adsorção de metais pesados, corantes e outros resíduos poluentes no meio ambiente [39].

Na agricultura, a quitosana tem sido aplicada como biofilme na preservação de frutas, legumes e sementes contra a deteriorização por microrganismos, para estimular o sistema imune da planta, proteger a planta contra o ataque de patógenos [40-42] e favorecer o seu crescimento e consequentemente aumentar a produção vegetal [43-46].

Esse biopolímero pode interferir diretamente no crescimento de vários fungos fitopatógenos e bactérias (tabela 1), apresentando efeito fungistático e/ou fungicida, e bacteriostático e/ou bactericida. Autores relatam que a quitosana pode induzir mudanças morfológicas, alterações estruturais e desorganização molecular em fungos [45]. Também pode ativar várias respostas de defesa no tecido vegetal ocasionando: lignificação, indução de síntese de calose, eliciação da produção de fitoalexinas [47], de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), acúmulo de quitinase [45], síntese de inibidores de proteinase [48], e induzir a atividade da fenil-alanina amônialiase (FAL) [49].

Tabela 1. Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Bactericida /Fungicida (CMB/CMF) da quitosana extraída da biomassa *M. javanicus*, com 85% deacetilação com Médio Peso Molecular (Q_{MPM}) e com Baixo Peso Molecular (Q_{BPM}), ambos solúveis em ácido acético 1%, para fungos e bactérias patogênicos.

Microrganismos	Concentração Mínima Inibitória (CMI) mg/mL		Concentração Mínima Fungicida/Bactericida (CMF/CMB) mg/mL	
	Q_{MPM}	Q_{BPM}	Q_{MPM}	Q_{BPM}
BACTERIAIS				
<i>L. monocytogenes</i>	1,25	1,25	2,5	2,5
<i>P. aeruginosa</i> ,	2,5	1,25	10,0	5,0
<i>S. entérica</i>	5,0	5,0	10,0	10,0
<i>Y. enterocolítica</i>	1,25	1,25	2,5	2,5
<i>S. aureus</i>	2,5	2,5	5,0	5,0
<i>E. coli</i>	2,5	1,25	5,0	2,5
LEVEDURAS				
<i>S. cerevisiae</i>	2,5	2,5	5,0	5,0
<i>C. guilliermondi</i>	1,25	1,25	2,5	2,5
<i>C. glabrata</i>	2,5	2,5	5,0	5,0
<i>C. krussi</i>	1,25	1,25	2,5	2,5
FUNGOS FILAMENTOSOS				
<i>A. niger</i>	5,0	5,0	10,0	10,0
<i>P. fumigatus</i>	5,0	5,0	10,0	10,0
<i>F. moniliforme</i> ,	5,0	5,0	5,0	5,0
<i>R. stolonifer</i>	2,5	2,5	5,0	5,0
<i>B. cinérea</i>	2,5	2,5	5,0	5,0
<i>C. musae</i>	2,5	2,5	5,0	5,0
<i>C. gloeosporioides</i>	5,0	5,0	10,0	10,0

Dados obtidos pelo grupo de pesquisa do laboratório de Microbiologia da Universidade Federal da Paraíba.

Entre os fatores que influenciam a bioatividade da quitosana estão o seu peso molecular, o seu grau de acetilação, a distribuição e a conformação do grupo acetil na cadeia molecular da quitosana [50]. Chittenden y Singh [51] observaram em experimento *in vitro* que oligômeros de quitosana, com menor peso molecular, foram mais eficientes na inibição do crescimento e da germinação dos esporos de *Leptographium procerum* e *Sphaeropsis sapinea*, quando comparada com a quitosana de maior peso molecular. Esses autores sugerem que a quitosana com menor peso molecular penetra mais facilmente a parede celular destes fungos, o que afeta mais rápido os componentes vitais das células e as atividades fisiológicas.

Alguns trabalhos sugerem que a atividade antimicrobiana da quitosana é devido ao grupamento amino em sua forma policatiônica, na presença de pH abaixo de 6. Nessas condições, a quitosana é capaz de interagir com as cargas negativas da membrana celular do microrganismo, causando mudanças na permeabilidade da membrana plasmática, e perda de componentes

intracelulares [23, 52-54]. Essa propriedade da quitosana, foi testada por Liu et al. [55] que observaram efeito inibitório do crescimento dos microrganismos *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Candida albicans* na presença do complexo quitosana-betaína, sendo que o mesmo ocorreu utilizando apenas a quitosana, com exceção de *C. albicans*. Esses autores também sugerem que a quitosana pode se ligar a superfície da célula formando um filme ao redor desta, dificultando o transporte de nutrientes pela membrana plasmática.

Apesar das inúmeras possibilidades de aplicação da quitosana, um dos principais fatores limitantes para o uso deste polissacarídeo é sua baixa solubilidade em água, uma vez que em pH acima de 6,5 sua natureza catiônica começa a ser prejudicada [56]. Desse modo, pesquisas tem sido desenvolvidas com o objetivo de alterar a estrutura química e despolimerizar a quitosana. Guo et al. [57] observaram que o derivado carboximetil quitosana apresenta uma maior solubilidade em água e também uma atividade antifúngica satisfatória contra os fitopatógenos *Valsa mali*, *Alternaria solani*, e *Fusarium oxysporium* f. sp. *vasinfectum*. Já o derivado de quitosana denominado hidroxipropil quitosana, além de apresentar maior solubilidade em água também mostrou efeito antifúngico em relação à *Coniella diplodiella*, *Rhizopus nigricans*, *Gloeosporium fructigenum*, *Fusarium oxysporum* sp., *Altwenaria mali*, e *Physaclospora piricola*. Segundo Peng et al. [58], o efeito antifúngico destes derivados é provavelmente resultado da maior solubilidade em água e da propriedade hidrofóbica proporcionada pela introdução do grupamento hidroxipropil à estrutura da quitosana.

Outro modo de aplicação da quitosana é através da formação de complexos com metais pesados, como demonstraram Wang et al. [59] que observaram o aumento da atividade antimicrobiana deste complexo em relação à *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enteritidis*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium* sp., *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*. De acordo com os autores, a quelação com o íon Zn fortalece as cargas positivas do grupo amino da quitosana, o que facilita a interação destas cargas com componentes aniônicos da superfície celular, e conseqüentemente o efeito antimicrobiano.

Quitosana no biocontrole de microrganismos fitopatógenos. As plantas durante o final do seu desenvolvimento e após o período de colheita, tem reduzida a sua resistência natural ao ataque de patógenos, o que contribui para a manifestação de infecções quiescentes e o aumento da incidência e severidade das doenças [48]. Esse declínio da resistência natural pode ser ocasionado devido ao aumento dos requerimentos nutricionais do patógeno, à diminuição na produção dos

compostos antifúngicos pré-formados e de fitoalexinas e ao aumento da ativação dos fatores de patogenicidade dos fungos [60].

Consideráveis perdas pós-colheita, com conseqüente diminuição da qualidade de mercado dos frutos, são causadas em decorrência da ação de fungos fitopatógenos [61]. Os frutos devido ao seu baixo pH, elevado teor de umidade e composição de nutrientes, são muito susceptíveis à ação de patógenos fúngicos, os quais em adição a sua ação deteriorante, podem tornar os produtos impróprios para o consumo devido a produção de micotoxinas [62, 63].

A presença de fungos e seus metabólitos está entre as principais causas biológicas primárias de perdas de produtos perecíveis de origem vegetal. *Eckert y Ratnayake* (1994) [64] estimaram que, de aproximadamente cem mil espécies fúngicas reconhecidas, menos de 10% são fitopatógenos, enquanto que em torno de cem espécies são responsáveis pela maioria das doenças pós-colheita. Agências internacionais de monitoramento dos recursos alimentares no mundo reconhecem que a opção mais viável para alcançar a futura necessidade de alimentos seria a redução de perdas pós-colheita [65].

Penicillium digitatum, *P. italicum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *A. solani*, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus niger* e *Colletotrichum gloeosporioides* destacam-se como fungos patógenos em frutos pós-colheita [66-67]. O ataque destes microrganismos aos frutos causa doenças superficiais e destruição dos tecidos, resultando em redução da sua qualidade e da vida em prateleira, tornando-os menos atrativos ou não comercializáveis [62].

Embora seja difícil determinar a total magnitude das perdas pós-colheita devido à deterioração microbiana, as quais variam amplamente de acordo com o tipo de vegetal, a área de produção e os aspectos sazonais, cerca de 25% da produção mundial de vegetais está sujeita ao ataque de microrganismos em países industrializados, enquanto que em países em desenvolvimento este dano é freqüentemente mais alto, podendo atingir até 50% da produção [68].

Para reduzir estes prejuízos, métodos físicos, químicos e biológicos vêm sendo empregados. O controle químico, pela aplicação de fungicidas sintéticos, permanece sendo a principal medida para reduzir a incidência de doenças pós-colheita em frutos. Estes compostos podem ser utilizados de forma isolada, combinados em misturas, ou aplicados separadamente em seqüência [69,70].

A utilização de pesticidas durante a pré-colheita é um método eficiente na redução de podridões na pós-colheita, principalmente pela redução da fonte de inóculo. Outra alternativa é o uso de antifúngicos sintéticos pertencentes ao grupo de benzimidazoles, hidrocarbonetos aromáticos e inibidores da biosíntese do esterol que são freqüentemente utilizados como tratamento pós-colheita. Entretanto, um sério problema relacionado ao uso efetivo destes compostos químicos é o desenvolvimento de resistência por parte dos fungos [71]. A aplicação de crescentes concentrações

de agentes químicos como tentativa de superar o problema da resistência fúngica, resulta na presença de altos níveis de resíduos tóxicos nos produtos e no meio ambiente, bem como no aumento da intensidade de seus efeitos colaterais e do custo final de produção [72-74]. Além disso, os efeitos fitotóxicos e de *off-odour* em vegetais de alguns destes fungicidas tem restringido o seu uso [75].

O amplo uso de fungicidas no mundo é variável, embora seja estimado que anualmente cerca de 23 milhões de quilos destes compostos sejam aplicados em frutas e vegetais. Esse procedimento é aceito e difundido pelos produtores pois acreditam que a produção e o mercado de produtos vegetais perecíveis não seriam possíveis sem o seu uso [76]. Carcinogenicidade, teratogenicidade, alta e aguda toxicidade residual, longo período de degradação, poluição ambiental, influência sobre os caracteres organolépticos dos alimentos, e efeitos colaterais em humanos são os principais fatores que têm restringido o uso de fungicidas químicos no controle da deterioração pós-colheita [77].

A preocupação pública destes riscos tem despertado o interesse na descoberta de protetores de culturas mais seguros com vista à substituição de pesticidas químicos sintéticos. Uma alternativa emergente tem sido o uso de protetores naturais com potencialidade fungitóxica, os quais devem ter baixa toxicidade em mamíferos, menos efeitos deletérios sobre o ambiente, e ampla aceitação pública [78]. O uso de métodos não-químicos e de agentes fungicidas não-seletivos pode suprir parte desta necessidade [65].

Pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de comprovar a eficiência da quitosana no controle de doenças durante os períodos de plantio e de colheita, substituindo ou competindo com os produtos químicos. A quitosana pode aumentar a síntese de compostos antifúngicos na planta como fitoalexinas e enzimas hidrolíticas como quitinases e glucanases, induzindo a resistência natural das plantas [31, 50]. Além disso, a quitosana tem a habilidade de formar um filme semipermeável que pode aumentar a vida útil pós-colheita de frutas e hortaliças [36]. Esse filme possui ação antifúngica e antibacteriana, modifica a atmosfera ao redor do produto vegetal, regula a perda de umidade, a respiração do produto, atrasa o seu amadurecimento [79, 80], induz a capacidade antioxidante e mantém o conteúdo fenólico final do fruto, melhorando a sua preservação pós-colheita [81].

Embora o mecanismo exato pelo qual a quitosana exerce sua atividade antifúngica e antibacteriana ainda não tenha sido esclarecido, algumas hipóteses têm sido sugeridas. Singh et al. [28] relata que a quitosana induz a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) nas células dos fungos causando estresse oxidativo e, conseqüentemente danos aos principais componentes da célula (proteínas, lipídios, DNA e outros). De acordo com *Di Piero et Garda* [82] e *Laflamme et al.*

[83] a quitosana, por apresentar alta massa molecular e cargas positivas, pode interferir com os resíduos das macromoléculas com cargas negativas quando expostas sobre a superfície celular fúngica, e dessa forma, modifica a permeabilidade da membrana plasmática. Essa interação pode provocar desbalanço osmótico e pronunciada desorganização celular. Além disso, Laflamme et al. [83] também sugerem que a quitosana pode interagir com o DNA da célula fúngica e alterar sua conformação, inibindo a síntese de mRNAs e proteínas.

Pacheco et al. [50] observaram *in vitro* o efeito inibitório da quitosana de baixo peso molecular juntamente com a levedura *Pichia guillirmondii* no crescimento micelial e germinação de esporos de *Penicillium digitatum*, fungo conhecido como bolor verde que causa apodrecimento de frutos cítricos. Liu et al. [63] também comprovaram *in vitro* a atividade antifúngica da quitosana que inibiu o crescimento micelial e a germinação de esporos de *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum*. Assis et Leoni [84] utilizaram biofilme de quitosana para revestimento de maçãs da cv. Gala e observaram nestes frutos um efeito redutor da perda de massa em relação ao controle, porque o biofilme reduz parcialmente a troca de gases, ou seja, a taxa de respiração do fruto, prolongando sua vida. Além disso, o caráter antifúngico da quitosana também foi avaliado, uma vez que fungos fitopatogênicos cresceram na superfície de frutos não tratados com quitosana. O efeito antifúngico da quitosana também foi testado em morangos na presença dos fungos fitopatogênicos *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer*. El Ghaouth et al. [41] observaram, neste caso, que os frutos revestidos com quitosana (10 mg/mL) apresentaram redução na doença pós-colheita causada por estes fungos, e que a quitosana inibiu a germinação de esporos, o crescimento do tubo germinativo e o crescimento radial de ambos os fungos; além disso, este biopolímero induziu mudanças morfológicas nas hifas de *Rhizopus stolonifer*.

O efeito antifúngico da quitosana também foi constatado por Rappussi et al. [9]. Esses autores observaram *in vitro* que todas as concentrações de quitosana (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0%) testadas em *Guignardia citricarpa*, fungo causador da mancha negra em frutos cítricos, inibiram o seu crescimento micelial e afetaram a germinação dos conídios e a formação de apressórios. Testes *in vitro* constataram que a quitosana com menor peso molecular ($0,5 \times 10^4$ g/mol) apresentou maior efeito antifúngico, inibindo o crescimento micelial do fungo *Botrytis cinerea*, causador do mofo cinzento em frutos de tomate [40].

O crescimento micelial de *Botrytis cinerea* também foi completamente inibido pelas concentrações de quitosana de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0% durante o período de incubação de cinco dias a 22°C. Neste mesmo trabalho foi observado que nos tratamentos com quitosana, independente de sua concentração, os conídios germinaram mais tardiamente quando comparados ao tratamento controle, apresentando alterações morfológicas no micélio como hifas atrofiadas, mais espessas e

com ramificações excessivas. Já nos ensaios *in vivo*, a quitosana mostra ter um efeito mais curativo do que protetor, uma vez que diferentes concentrações de quitosana, quando aplicadas após a inoculação dos cachos de uva “*Itália*”, foram mais eficientes em reduzir o índice de doenças causado por *B. cinérea* do que os tratamentos com aplicação da quitosana antes da inoculação. Além disso, a quitosana não causou qualquer sintoma aparente de fitotoxicidade nos cachos de uva [85].

A grande redução na incidência e severidade do mofo cinzento causado por *B. cinerea* em uvas cvs. “*Thompson Seedless*”, “*Autumn Black*”, e “*Emperor*” também foram verificadas em tratamentos com quitosana a 1%. Neste trabalho, as uvas foram pulverizadas com quitosana e durante cinco dias elas foram colhidas e imediatamente inoculadas com *B. cinerea*, sendo que as menores incidência e severidade da doença foram observadas nos frutos colhidos com maior antecedência, ou seja, com 1 e 2 dias após o tratamento com quitosana [86]. Santos et al. [87] observaram que frutos de pêssigo cv. Douradão quando revestidos com quitosana a 1% apresentaram menor incidência de podridões pós-colheita em relação ao tratamento controle, devido possivelmente às propriedades antifúngicas deste biopolímero. O efeito antimicrobiano da quitosana também foi avaliado contra bactérias fitopatógenas, como por exemplo no trabalho realizado por Li et al. [88]. Esses autores observaram que a quitosana apresentou atividade antibactericida contra a bactéria *Pseudomonas fluorescens* que causa podridão em brócolis, e também reduziu a incidência desta doença e o diâmetro da lesão nas plantas.

A quitina e a quitosana também podem ser extraídas do micélio de fungos, principalmente os da classe *Zygomycetes*, ordem Mucorales, e apresentam a mesma atividade antimicrobiana presente na quitosana de crustáceos [23]. Wu et al. [89] observaram que a quitina e a quitosana, extraídas do micélio de *Aspergillus niger* e *Mucor rouxii*, apresentaram a mesma eficiência na redução de lesões em maçãs cv. Gala causadas pelos fungos *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum*.

A lise da membrana plasmática e a inibição da germinação de esporos de fungos foram demonstradas em trabalho sobre biocontrole de fungos patogênicos [90]. Através deste estudo, foi observado que os fungos entomopatogênicos e nematófagos são menos inibidos pela quitosana que os fitopatogênicos e micoparasiticos provavelmente porque apresentam a enzima quitosanase que degrada a quitosana. Mesmo assim, a quitosana pode ajudar a desenvolver novas estratégias para o biocontrole em geral de fungos patogênicos, evitando o uso de fungicidas que prejudicam o meio ambiente e a saúde humana.

Efeito da quitosana nas plantas. A quitosana é um biopolímero de grande interesse para a agricultura, porque regula a transcrição de genes envolvidos com a produção de enzimas ligadas à resistência da planta às doenças e insetos [91]. Além disso, ela serve como fonte de carbono para os

microrganismos do solo, ajudando a acelerar o processo de mineralização da matéria orgânica e liberação de nutrientes, que são facilmente absorvidos pelas plantas [43].

Ao avaliar diferentes modos de aplicação da quitosana (concentração da solução de quitosana 80 ppm) na cultura do arroz cv. Suphanburi 3, a maior produção de matéria seca e de grãos de arroz foi observada por *Boonlertnirun et al.* [43] ao aplicar a solução de quitosana nas sementes e no solo antes da colheita. Segundo os autores este fato pode estar associado ao maior período de disponibilidade da quitosana no solo, quando comparado à aplicação nas folhas.

Em estudos realizados por *Pastucha* [92] foram verificados efeitos de diferentes aplicações da quitosana na proteção de plantas de soja contra patógenos do solo. De acordo com o autor, a quitosana quando aplicada nas sementes, nas mudas, e no início da antese foi mais eficiente em inibir infecções na soja em comparação com a aplicação da quitosana apenas no período de desenvolvimento da soja. O trabalho sugere que estas aplicações protegem as sementes germinadas das infecções por fungos do solo; o tratamento nas mudas prorroga o efeito protetor da quitosana e protege as folhas, e a aplicação durante a antese protege as flores e conseqüentemente os frutos e as sementes de infecções por fitopatógenos. *Paz-Lago et al.* [93] observaram o efeito da quitosana na proteção de plantas de tomate contra *Fusarium oxysporum f.sp lycopersicii*, e observaram que no tratamento controle sem a aplicação da quitosana as plantas ficaram mais susceptíveis ao patógeno, e que a pulverização deste biopolímero (250 ppm ou 250 mg/mL) se mostrou eficiente na proteção do hospedeiro contra este fungo.

De acordo com *Otha et al.* [44] e *Rabea et al.* [45] a quitosana possui na sua constituição química entre 6,89 a 8,7% de nitrogênio, o que pode promover aumento no crescimento vegetativo e reprodutivo em algumas plantas. *Otha et al.* [44] observaram que o crescimento de *Eustoma grandiflorum* na presença de quitosana a 1% acrescida ao solo, ou de fertilizante rico em nitrogênio, fósforo e potássio, foi semelhante e maior do que o controle. Já a combinação dos dois tratamentos proporcionou um maior crescimento da planta, quando comparado com a aplicação separadamente. Os autores sugerem que a quitosana além de proporcionar aumento no crescimento da planta devido ao seu conteúdo de nitrogênio, também pode induzir o seu sistema de defesa. Resultados semelhantes foram encontrados por *Otha et al.* [94] que observaram, durante o cultivo de várias plantas ornamentais, o efeito da quitosana acrescida ao solo em comparação com tratamentos utilizando fertilizantes contendo a mesma dose de nitrogênio da quitosana e com o controle. A quitosana proporcionou maior produção de matéria seca e fresca da parte aérea e da raiz e uma floração antecipada em comparação com os demais tratamentos.

De acordo com *Boonlertnirun et al.* [43] o período de disponibilidade da quitosana no solo, por ser mais longo do que quando aplicada nas folhas, favorece um maior contato da planta e dos

nutrientes do solo com as cargas positivas da quitosana; estas cargas podem se ligar às cargas negativas de nutrientes presentes no solo, facilitando sua absorção pelas plantas e contribuindo para o aumento da produtividade vegetal. Por outro lado, a quitosana quando aplicada nas folhas de plantas de morango favoreceu o aumento da altura das plantas, do número de folhas, da biomassa das folhas, do número de frutos por planta e do nível de acidez e carboidratos totais presentes nestes frutos no trabalho *R Abdel-Mawgoud et al.* [46]. Segundo os autores, mais estudos devem ser realizados para se entender detalhadamente essa influência da quitosana na produtividade e crescimento da planta mesmo quando aplicada via foliar; no entanto eles sugerem que o conteúdo de nitrogênio presente na quitosana pode ter favorecido o desenvolvimento da planta.

Além de melhorar o crescimento, a resistência às doenças e a produtividade das plantas quando aplicada em pré-colheita, a quitosana também influencia na transpiração das plantas. *Bittelli et al.* [95] observaram que a quitosana (concentração 1 g/L) aplicada nas folhas de *Capsicum* sp. cultivadas em casa-de-vegetação e no campo consumiram 26 e 43 % menos água do que o controle, respectivamente. A quitosana aplicada nas folhas induziu o fechamento dos estômatos através de uma diminuição do K nas células guarda. Este elemento é o principal regulador do potencial osmótico em células-guarda e deste modo baixas concentrações de K resultam no fechamento dos estômatos, e vice-versa. Entretanto, a diminuição no consumo de água dos tratamentos com quitosana não afetou a produção de biomassa destas plantas, quando comparadas com o controle. Já a relação biomassa água foi maior nas plantas tratadas com quitosana. Essa nova aplicação da quitosana mostra-se interessante economicamente porque pode ajudar a diminuir o consumo de água, principalmente na agricultura irrigada.

Os efeitos da quitosana não só foram avaliados em casa-de-vegetação e em campo, como também alguns experimentos já testaram o uso deste biopolímero na micropropagação. *Kowalski et al.* [96] avaliaram que a aplicação de quitosana nos estágio *in vitro* e de aclimatização pode estabilizar a qualidade da planta e os rendimentos na micropropagação da batata (*Solanum tuberosum* cv. Désirée) em um nível elevado. A quitosana reduziu a transpiração durante o crescimento das plantas no estágio *in vitro*, em casa de vegetação e no campo. O tratamento com quitosana aplicada somente *in vitro* e em combinação com tratamento foliar durante a fase de aclimatização em casa de vegetação aumentou a qualidade das sementes, resultando em plantas no campo com aumento na produção e número de tubérculos.

Resultados semelhantes foram encontrados por *Asghari-Zakaria et al.* [97] que trabalhando com batata cv. Agria observaram: todos os tratamentos com aplicação de quitosana mostraram efeito positivo na matéria seca da parte aérea; a aplicação de quitosana *in vitro* melhorou a aclimatização das plantas em casa de vegetação, aumentando o número de minitubérculos e a

produção, quando comparado com o controle. Desse modo, *Kowalski et al.* [96] e *Asghari-Zakaria et al.* [97] mostraram que a qualidade das plantas *in vitro* influencia diretamente a qualidade de adaptação destas plantas durante a fase de aclimatização em casa de vegetação, e a fase no campo. Assim, além de induzir a resistência e promover o crescimento das plantas, a quitosana também pode aliviar o estresse causado pelas condições de cultivo *in vitro* e durante a aclimatização.

O efeito da quitosana em plantas cultivadas *in vitro* já foi avaliado também em relação ao processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN). *Costales et al.* [98] estudaram a influência da quitosana, submetida a diferentes tratamentos de hidrólise, na interação da soja inoculada com *Bradyrhizobium elkanii* e seus efeitos na nodulação. A quitosana hidrolizada por 24 horas apresentou os melhores resultados tanto na formação dos nódulos como no incremento da biomassa nodular, o que sugere que neste tempo de hidrólise se obteve fragmentos de quitosana com menor tamanho e atividade biológica. A quitosana induz a planta a produzir mais flavonóides e outros indutores dos genes *nod* em bactérias, o que incrementa a interação simbiótica planta-bactéria contribuindo para uma melhor nodulação. Resultados semelhantes também foram encontrados no trabalho de *Costales et al.* [99] que observaram efeito da quitosana no aumento do número e biomassa de nódulos em plantas de soja inoculadas com a mesma bactéria. *Ali et al.* [100], também avaliando o efeito da quitosana na FBN em soja, observaram que a aplicação deste biopolímero no solo resultou em efeito deletério no desenvolvimento dos nódulos e na fixação de nitrogênio, durante o estágio inicial de desenvolvimento (28 dias após o plantio). Entretanto, a utilização de 0,1% de quitosana no solo ocasionou aumento da nodulação, da FBN e um melhor crescimento das plantas em comparação com o controle, durante o último estágio de desenvolvimento avaliado (42 dias após o plantio). De acordo com estes autores, durante os estágios iniciais de desenvolvimento a baixa concentração de quitosana estimulou a multiplicação dos rizóbios, o que pode ter estendido o processo de infecção das raízes pelos rizóbios nos estágios iniciais e o desenvolvimento dos nódulos produzidos no último estágio de desenvolvimento da soja.

Indução de resistência em plantas: aspectos gerais. Diversas situações de estresse como oscilações drásticas de temperatura, umidade, radiação solar e ataque de patógenos, ocorrem durante o ciclo de vida de uma planta. Através da ativação de mecanismos de resposta contra danos e doenças, a planta tenta superar esses estresses bióticos e abióticos e restabelecer o seu metabolismo natural [101, 102]. Muitas plantas apresentam resistência a vários patógenos, mas a doença pode ocorrer quando estas não conseguem reconhecer o patógeno e conseqüentemente não ativam rapidamente seus mecanismos de defesa; ou quando há imperfeições nos mecanismos de defesa físicos e químicos pré-formados [103]. Além disso, a resistência natural da planta às doenças geralmente diminui durante o desenvolvimento de frutos e flores e após sua colheita levando a

infecções, doenças e finalmente a morte. Em produtos hortícolas, as doenças pós-colheita causadas por fungos geralmente surgem a partir de infecções latentes estabelecidas no campo; ou de infecções durante a colheita e do manuseio do produto vegetal. O declínio da resistência da planta às doenças pode ativar infecções quiescentes e a incidência ou severidade de determinada doença [9].

Os patógenos atacam áreas da planta que possuem afinidades, penetrando no hospedeiro através de aberturas naturais, ferimentos, por ação enzimática ou força física. A ação enzimática pode também liberar fragmentos da parede celular do patógeno (oligossacarídeos solúveis) que podem ser tóxicos às plantas ou elicitarem resposta de defesa [104]. A resposta de defesa da planta e o reconhecimento do patógeno são regulados de acordo com o tipo de interação patógeno-planta, ou seja, se for uma interação incompatível (patógeno avirulento e hospedeiro resistente), o sistema de defesa da planta é eficientemente ativado, conduzindo à resistência. Quando se trata de uma interação compatível (patógeno virulento e hospedeiro suscetível) o sistema de defesa é tardiamente ativado ou não é ativado, ocasionando a doença [105]. Entretanto, os mesmos mecanismos de defesa que ocorrem em uma interação incompatível podem ser apresentados por hospedeiros suscetíveis ou com baixo nível de resistência através da indução de resistência [104, 106].

A resposta da resistência natural dos tecidos vegetais à presença de um patógeno pode se dar através de mecanismos estruturais ou bioquímicos pré e pós-formados [48, 107]. Os mecanismos pré-formados existem na planta antes da chegada do patógeno como a cutícula, tricomas, adaptações em estômatos, parede celular espessa, fibras, forma dos vasos condutores e espinhos. Os fatores bioquímicos envolvem a presença de fenóis, alcalóides, fototoxinas, glicosídeos cianogênicos, glicosídeos fenólicos, inibidores protéicos, enzimas hidrolíticas [108, 109].

Por outro lado, os mecanismos de defesa pós-formados são mais eficientes na proteção da planta, podendo permanecer inativos ou latentes, sendo apenas ativados após a chegada do patógeno. Esse processo também é conhecido como resistência induzida sendo que as barreiras estruturais podem envolver a lignificação, suberificação, formação de papilas, de camadas de abscisão e de cortiça, bem como tiloses [110, 111].

Os mecanismos bioquímicos pós-formados podem englobar o acúmulo de fitoalexinas, proteínas protetoras relacionadas a patogênese (PR-proteins), subdivididas em diversos grupos (β -1,3-glucanases, quitinases, peroxidases, etc) e espécies reativas de oxigênio (ERO). Esses mecanismos atuam na planta no sentido de evitar ou retardar a entrada de um microrganismo no interior da mesma, bem como criar condições adversas para a colonização dos tecidos vegetais pelo patógeno [111,112].

Alguns mecanismos de resistência latente na planta podem ser ativados através do tratamento da planta com agentes bióticos e abióticos que causam a indução de resistência. [9, 113]. A indução de resistência pode ser local, quando apenas o tecido da planta com o indutor apresenta indução de resistência, ou sistêmica, quando a indução de resistência se manifesta a distância do local onde foi aplicado o indutor [112].

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), conhecidas como explosão oxidativa (exemplos O_2^- , H_2O_2), é uma das primeiras respostas ocasionadas em ambas as interações patógeno-hospedeiro, compatíveis ou incompatíveis. As EROs são moléculas reduzidas, transitórias e altamente reativas, produzidas no processo metabólico de transformação do oxigênio molecular (O_2) a água (H_2O). Durante este processo a enzima peroxidase participa da conversão do oxigênio, ao receber um elétron, para radical superóxido (O_2^-). Esse radical superóxido pode passar por reações de oxidorredução transformando-se em O_2 e H_2O_2 ; em seguida o H_2O_2 pode ser convertido a O_2 e H_2O pela ação da catalase, ou pode ser convertido a H_2O pela ação da peroxidase. Algumas das funções propostas para a EROs durante a infecção do patógeno são: agir como antimicrobiano direto, inibindo o desenvolvimento do patógeno; ativar genes de defesa; favorecer a formação de ligações cruzadas entre proteínas estruturais que fortalecem a parede celular, limitando a infecção do patógeno; produzir resposta hipersensitiva (HIR); causar morte celular; produzir ácido salicílico e resistência sistêmica adquirida (RAS) [111, 114, 115].

As EROs são altamente reativas e tóxicas também à célula vegetal sendo rapidamente retiradas do meio pelas enzimas antioxidantes como as superóxido dismutases (SODs), enzimas do ciclo do ascorbato/glutationa, catalase e β -caroteno [116]. Desse modo, a catalase e a peroxidase são duas enzimas de grande importância para o sistema de defesa da planta. A catalase presente nos peroxisomos, e a peroxidase na parede celular, citosol e vacúolos das plantas participam na síntese de EROs e são responsáveis por equilibrar a produção destas substâncias durante uma situação de estresse, uma vez que este excesso é prejudicial a planta. Além disso, a peroxidase está envolvida no processo de lignificação da parede celular, catalisando o último passo enzimático da biossíntese da lignina, uma barreira estrutural contra a penetração do patógeno [117].

A atividade da catalase depende do estresse ser abiótico ou biótico. Durante um estresse abiótico a catalase atua diminuindo os níveis de EROs que em excesso são tóxicos a planta; por outro lado, no estresse biótico, elicitores podem aumentar a atividade da peroxidase, otimizando a síntese de EROs para proteção da planta [118]. Neste último caso, a atividade da catalase diminui resultando em acúmulo destas substâncias na planta que causam a morte celular programada na planta, também conhecida como resposta de hipersensibilidade, que limita a proliferação do patógeno no tecido da planta [118, 119].

Efeito da quitosana na indução de resistência em plantas. A quitosana é um polissacarídeo que protege a planta da ação de fungos patogênicos, ativando seus mecanismos de defesa. Essa substância na planta estimula a produção de espécies reativas de oxigênio; inibe a ação de proteinases; altera o metabolismo das fitoalexinas; promove a lignificação; induz a formação de compostos fenólicos; ativa as enzimas quitinases, β -1,3-glucanases, fenilalanina amônia-liase e peroxidase; e estimula o acúmulo de proteínas relacionadas à patogenicidade [23, 117]. Durante a interação planta-fitopatógeno, este biopolímero pode induzir a síntese de barreiras estruturais nos locais de penetração do fitopatógeno no hospedeiro, como por exemplo, a suberização da célula vegetal e a lignificação de alguns órgãos da planta [120].

O estresse na planta, causado pelo ataque de patógenos, induz a transcrição de genes responsáveis pela síntese da enzima de defesa, como por exemplo, a poligalacturonase que é ativada na planta por um mecanismo ainda não conhecido. Essa enzima degrada a parede celular da planta produzindo o ácido oligogalacturônico que causa a explosão oxidativa, ou seja, induz a produção de espécies reativas de oxigênio [101, 114]. *Orozco-Cardenas et al.* [114] observaram que a quitosana (125 $\mu\text{g/mL}$), quando aplicada em plantas de tomate, induziu a produção de H_2O_2 e a atividade da poligalacturonase. Além disso, os resultados mostram que o declínio nos níveis de H_2O_2 ocorre ao mesmo tempo em que a atividade da enzima poligalacturonase diminui. Isso reforça a hipótese que a atividade desta enzima está diretamente relacionada com a produção de H_2O_2 .

Outra resposta de defesa da planta contra ataques de patógenos e insetos é a inibição da enzima proteinase, que atua no lúmen do intestino de insetos fornecendo os aminoácidos essenciais para sua nutrição. Esses inibidores estão presentes em muitas famílias de plantas e estão localizados em seus órgãos reprodutivos, órgãos de reserva e tecidos vegetativos. A maioria desses inibidores são moléculas pequenas, estáveis, abundantes e fáceis de purificar, podendo também atuar como proteínas de reserva e como reguladores de enzimas endógenas. O mecanismo pelo qual os inibidores de proteinases interferem no processo digestivo dos insetos se deve à diminuição da assimilação de nutrientes [121]. A quitosana quando aplicada em plantas de tomate induziu a transcrição de genes envolvidos com a síntese dos inibidores de proteinase através da via do octadecanoide. Mesmo na presença de inibidores desta via como o sódio p-chloromercuribenzenosulfonato (PCMBs), sódio diethyldithiocarbamate (DIECA), e sódio salicilato (SA), apenas os dois últimos inibiram a atividade indutora da quitosana [91].

Badawy y Rabea [40] observaram efeitos da quitosana em frutos de tomate inoculados com *Botrytis cinerea* diretamente proporcional ao conteúdo de proteínas totais e aos compostos fenólicos solúveis em relação à concentração de quitosana aplicada. *Ortega-Ortiz et al.* [122] avaliaram o nível da atividade das enzimas peroxidase e catalase em frutos de tomate cv. "Petoseed" em

diferentes estágios de desenvolvimento quando tratados com o indutor quitosana a 0,1%; ácido salicílico e ácido benzóico. Os autores mostraram que os indutores de resistência exercem diferentes efeitos de acordo com o estágio de desenvolvimento do fruto no quais são aplicados. Foi observado aumento na atividade da catalase em frutos de tomate, quando a quitosana foi aplicada durante o crescimento dos frutos. Segundo os autores, este aumento no nível da catalase esta relacionado à maior tolerância aos danos oxidativos causados pelo frio. Entre os três indutores avaliados a quitosana resultou em maior diferença na atividade da peroxidase em relação ao controle. A atividade da peroxidase esta correlacionada à resposta de defesa do fruto na presença de patógenos. A maior atividade da peroxidase com quitosana parece indicar maior eficácia deste composto como um indutor do sistema antioxidante da planta.

Fálcon-Rodríguez et al. [123] também observaram aumento na atividade da enzima peroxidase após a aplicação de quitosana nas folhas e raízes de tabaco cultivado sem a presença de nenhum tipo de estresse. Apesar do investimento energético da planta durante o aumento da atividade enzimática ocorrer sem a presença de um estresse, não proporcionando efeito em curto prazo, esses autores sugerem que está indução de resistência resulta em acúmulo de metabólitos secundários e formação de barreiras químicas e estruturais que reforçam a resistência da planta contra patógenos.

No trabalho de *Pereira et al.* [124] tanto a quitosana extraída de *Trichoderma* sp.e *Rhizopus* sp. como o filtrado de micélio deste último fungo apresentaram um efeito protetor em plantas de cacauero contra *Verticillium dahliae*. Esses autores observaram que a aplicação do filtrado de *Rhizopus* sp. é capaz de promover aumento na atividade de enzimas (peroxidase e polifenoloxidase) na redução da murcha-de-verticílio do cacauero. Vale frisar que *Rhizopus* sp., assim como *C. elegans* é um fungo pertencente a ordem Mucorales com quantidade considerável de quitosana em sua parede celular.

Liu et al. [63] também comprovaram o potencial deste biopolímero em induzir reações de defesa através do aumento da atividade da peroxidase, da polifenoloxidase e aumento de compostos fenólicos em tomates na presença de *Botrytis cinerea* e *Penicillium*. A indução de resistência em frutos também foi observada por *Rappussi et al.* [9], que através da aplicação de quitosana em frutos de laranja inoculados com o fitopatógeno *Guignardia citricarpa*, observaram a inibição do desenvolvimento de novas lesões nas laranjas em condição de ambiente natural e sob refrigeração, e também no aumento da atividade da quitinase, β -glucanase, peroxidase e polifenoloxiadase. Mazaró [117] observou que a quitosana, quando aplicada em morangueiro nas concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0%, reduziu a mancha-de-micosferela, mancha-de-dendrofoma e flor-preta em morangueiro e induziu maior atividade da peroxidase.

Di Piero y Garda [82], avaliando o controle da antracnose em feijoeiro-comum utilizando quitosana, observaram diferença na resposta da planta em relação ao intervalo de tempo entre a aplicação da quitosana e a inoculação do patógeno *Colletotrichum lindemuthianum*. A aplicação da quitosana em um intervalo maior antes da inoculação mostrou ser mais efetiva em reduzir a severidade da antracnose e induzir o sistema de defesa da planta. A quitosana promoveu o aumento na atividade da enzima β -1,3-glucanase, que atua diretamente nas glucanas presentes na parede celular do fungo fitopatogênico inibindo o seu desenvolvimento.

As enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL) e a tirosina amônia-liase (TAL) participam da via fenilpropanoide e seus produtos são modificados em precursores de metabólitos secundários, como por exemplo: ligninas, flavonóides e fitoalexinas que participam durante a interação da planta com o patógeno. A quitosana quando aplicada em plantas de soja, aumentou a atividade das enzimas TAL e PAL, e conseqüentemente elevou a quantidade de compostos fenólicos que estão relacionados com o fenômeno de resistência da planta a doenças. A quitosana com uma cadeia molecular maior (hexâmeros de quitosana) induziu mais a atividade destas enzimas, quando comparada com tetrâmeros e pentâmeros de quitosana [49]. Esses oligômeros de quitosana com uma cadeia molecular maior podem ser obtidos através da hidrólise enzimática deste biopolímero.

Fálcon et al. [125] observaram que a aplicação da quitosana hidrolizada em todas as concentrações estudadas (5, 50, 100 e 500 mg/L) quando aplicadas em plantas de tabaco inoculadas com o fungo fitopatogênico *Phytophthora parasítica* var. *nicotianae* apresentou maior atividade das enzimas FAL e glucanase. Além disso, a quitosana não hidrolizada nas concentrações de 50 e 500 mg/L também induziu maior atividade das enzimas quitinase, glucanase e FAL em plantas de tabaco quando comparadas com o controle. A quitinase e a glucanase tem a capacidade de degradar parcialmente os polissacarídeos da parede celular dos fungos fitopatogenos.

CONCLUSÃO

Diante da necessidade crescente de aumentar a produção agrícola para suprir a demanda do crescimento populacional no mundo, tem se investido em alternativas que visam melhorar não só a quantidade como também a qualidade dos produtos na agricultura. Apesar de fertilizantes e pesticidas químicos serem frequentemente utilizados nas plantações, nos últimos anos muitas pesquisas tem sido realizadas com a finalidade de encontrar métodos que favoreçam o aumento da produção agrícola, que sejam viáveis em termos econômicos e ecologicamente corretos, ou seja, não prejudiquem o meio ambiente, e a saúde humana.

A quitosana é um biopolímero com propriedades que tem despertado interesse da comunidade científica como: biocompatibilidade; bioatividade; quase nenhuma toxicidade ao ser humano e

animais; biodegradabilidade; atividade antimicrobiana, entre outras. Através das pesquisas realizadas nos últimos anos, a quitosana tem demonstrado um potencial para ser aplicada na agricultura favorecendo o aumento da produção vegetal. Está confirmada a capacidade deste polissacarídeo na indução de resistência nas plantas e no biocontrole de alguns microrganismos fitopatogênicos, sendo deste modo uma alternativa na substituição dos pesticidas químicos que, ao contrário da quitosana, são prejudiciais ao meio ambiente. A quitosana aumenta a produtividade vegetal, uma vez que ajuda a acelerar o processo de mineralização da matéria orgânica, atua na liberação de nutrientes tornando-os facilmente disponíveis para as plantas; no aumento da fixação biológica de nitrogênio porque estimula a interação simbiótica planta-bactéria contribuindo para uma melhor nodulação; bem como no crescimento das plantas por apresentar um conteúdo considerável de nitrogênio, que pode se apresentar disponível para o desenvolvimento vegetal. Entretanto, mais pesquisas são importantes e necessárias para reforçar a capacidade do uso da quitosana na agricultura como uma alternativa que substitua ou complemente os métodos atuais, otimizando-os de modo que seja alcançado um resultado positivo para o aumento da produtividade agrícola, sem subestimar a preocupação com a qualidade ambiental e de vida do ser humano.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Fageria NK, *R. Bras. Eng. Agric. Ambiental*, **2**, 6 (1998)
- [2] Paterniani E, *Estudos Avançados*, **15**(43), 303 (2001)
- [3] Primavesi A “*Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais*”, 1ª edição, Nobel (2002), pg. 552.
- [4] Mota LM, *Saúde & Amb. Rev.*, **4**(1), 36 (2009)
- [5] Alves CR, Vieira DC, Assis OBG, *PA, CNPDIA*, **22**, 1 (1998)
- [6] San-Lang W, Shin IL, Wang CH, Tseng KC, Chang WT, Twu YK, Ro JJ, Wang CL, *Enzyme Microbial Technol.*, **31**, 321 (2002)
- [7] Fernando GD, Ramarathnam R, Krishnamoorthy AS, Savchuk SC, *Soil Biol Biochem*, **37**, 955 (2005)
- [8] Mazaró SM, Deschamps C, Mio LLM, Biasi LA, Gouveia A, Sautter CK, *Rev. Bras. Frutic.*, **30**(1), 185 (2008)
- [9] Rappussi MCC, Pascholati SF, Benato EA, Cia P, *Braz. Arch. Biol. Technol.*, **52** (3), 513 (2009)
- [10] Archbold DD, Hamilton-Kemp TR, Clements AM, Collins Randy W, *HortScience*, **34**, 705 (1999).
- [11] Moyle AL, Sholberg PL, Gaunce AP, *HortScience*, **31**, 414 (1996)
- [12] Sholberg PL, *Plant Dis*, **82**, 689 (1998)
- [13] Mari M, Leoni O, Lori R, Cembali T, *Plant Pathol.*, **51**, 231 (2002)
- [14] Lima G, De Curtis F, Castoria R, Pacifica S, De Cicco V “Additives and natural products against post harvest pathogens compatibility with antagonistic yeasts”. en “Plant Pathology and Sustainable Agriculture”, Proceedings of the *Sixth SIPaV Annual Meeting*, Campobasso, 17–18 September, 1998
- [15] Chu CL, Liu WT, Zhou T, *Fruits*, **56**, 123 (2001)
- [16] Mohapatra NP, Pati SP, Ray RC, *Annals of Plant Protection Science*, **8**, 106 (2000)
- [17] Tripathi P, Dubey NK, Pandey VB, *J Indian Bot Soc*, **81**, 51 (2002)
- [18] Capdeville G, De Wilson CL, Beer SV, Aist JR, *Phytopathology*, **92**, 900 (2002)
- [19] Choi WY, Park HJ, Ahn DJ, Lee J, Lee CY, *J Food Sci*, **67**, 2668 (2002)
- [20] Azevedo VVC, Chaves AS, Bezerra DC, Lia Fook MV, M. Costa ACF. *REMAP*, **23**, 27 (2007)
- [21] Franco LO, Stamford TCM, Stamford NP, Campos-Takaki GM. *Revista Analytica*, **4**(14), 40 (2005)
- [22] Silva RC, Andrade Jr. MAS, Cestari, AR. *Quim. Nova*, **33**(4), 880 (2010)
- [23] Stamford TCM, Stamford TLM, Franco LO. Produção, propriedades e aplicações da quitosana na agricultura e no ambiente. En: Figueiredo MVB, Burity HA, Stamford, NP, Santos CERS (editores). *Microrganismos e Agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura*. 1ª edição, Guaíba: Agrolivros, 2008, p. 568

- [24] Laranjeira MCM, Fávere VT, *Quim. Nova*, **32**(3), 672 (2009)
- [25] Fai AEC, Stamford TCM, Stamford TLM. *Rev. Iberoam. Polím.*, **9**(5), 435 (2008)
- [26] Stamford TCM, Stamford TLM, Stamford NP, Neto BB, Campos-Takaki GM, *Electron. J. Biotechnol.*, **10**, 1 (2007)
- [27] Zamani A, Edebo L, Niklasson C, Taherzadeh MJ. *Int. J. Mol. Sci.*, **11**, 2976 (2010)
- [28] Singh T, Vesentini D, Singh AP, Daniel G., *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, **62**, 116 (2008)
- [29] Synowiecki J, Al-Khatteb NAA. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **43**, 144 (2003)
- [30] Tharanathan RN, Kittur FS. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **43**, 61 (2003)
- [31] Rinaudo M. *Prog. Polym.*, **31**, 603 (2006)
- [32] Amorim RVS, Souza W, Fukushima K, Campos-Takaki GM. *Braz. J. Microbiol.*, **32**, 20 (2001).
- [33] Franco LO. *Biorremocão de Metais Pesados por Quitina e Quitosana Obtidos de *Cunninghamella elegans* (IFM 46109)*. Dissertação de Mestrado, Recife, Brasil, Universidade Federal de Pernambuco, 2000
- [34] Amorim RVS, Pedrosa RP, Fukushima K, Martínez CR, Ledingham WM, Campos-Takaki GM, *Food Technol. Biotechnol.*, **44**(4), 519 (2006)
- [35] Anjos FSC. *Filmes e beads à base de quitosana: incorporação de compostos luminescentes e estudos de interação hospedeiro-hóspede*. Dissertação de Mestrado, Recife, Brasil. Universidade Federal de Pernambuco, 2005
- [36] Dutta PK, Tripathi S, Mehrotra GK, Dutta J, *Food Chem.*, **114**, 1173 (2009)
- [37] Franco LO, Maia RCC, Porto ALF, Messias AS, Fukushima K, Campos-Takaki, GM, *Braz. J. Microbiol.*, **35**, 243 (2004)
- [38] Shahidi F, Arachchi JKV, Jeon YJ, *Trends Food Sci Technol.*, **10**, 37 (1999)
- [39] Chaves JAP, Bezerra CWB, Silva HAS, Santana SAA, *Cad. Pesq.*, **16** (2), 36 (2009)
- [40] Badawy MEI, Rabea EI, *Postharvest Biol. Technol.* doi:10.1016/j.postharvbio.2008.05.018. (2008).
- [41] El Ghaouth AE, Arul J, Grenier J, Asselin A, *Phytopathology*, **82**, 398 (1992)
- [42] Hernández-Lauzardo AN, Bautista-Baños MG, Velázquez-del V, Méndez-Montealvo MG, Sánchez-Rivera MM, Bello-Pérez LA, *Carbohydr Polym*, **73**, 541 (2008)
- [43] Boonlertnirun S, Boonraung C, Suvanasa R, *Journal of Metals, Materials and Minerals*, **18**(2), 47 (2008)
- [44] Otha K, Atarashi H, Shimatani Y, Matsumoto S, Asao T, Hosoki T, *J. JPN. Soc. Hortic. Sci.*, **69**(1), 63 (2000)
- [45] Rabea, EI, Badawy, MET, Stevens CV, Smaghe G, Steurbaut W, *Biomacromolecules*, **4**(6), 1457 (2003)
- [46] R Abdel-Mawgoud AM, Tantawy AS, El-Nemr MA, Sassine YN, *EJSR*, **39** (1), 170 (2010)
- [47] El Hadrami A, Adam LR, El Hadrami I, Daayf F, *Mar. Drugs*, **8**, 968 (2010)
- [48] Bassetto E. *Quantificação de danos ao longo da cadeia produtiva de pêssegos e avaliação de métodos alternativos de controle de doenças pós-colheita*, Tese de Doutorado. Piracicaba, São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz, ESALQ, USP, 2006
- [49] Khan W, Prithiviraj B, Smith DL, *J. Plant Physiol.*, **160**, 859 (2003)
- [50] Pacheco N, Larralde-Corona CP, Sepulveda J, Trombotto S, Domard A, Shirai K, *Int. J. Biol. Macromol.*, **43**, 20 (2008)
- [51] Chittenden C, Singh T, *Biol. Control*, **50**, 262 (2009)
- [52] Avadi MR, Sadeghi AMM, Tahzibi A, Bayati KH, Pouladzadeh M, Zohuriaan-Mehr MJ, Rafiee-Tehrani M, *Eur Polym J*, **40**, 1355 (2004)
- [53] Tsai GJ, Huang SP, *Fisheries Sci.*, **70**, 675 (2004)
- [54] Yadav AV, Bhise SB, *Curr. Sci.*, **87**, 1176 (2004)
- [55] Liu H, Du Yumin, Yang J, Zhu H, *Carbohydr Polym*, **55**, 291 (2004)
- [56] Lim S-H, Hudson SM, *Carbohydr Res.*, **339**, 313 (2004)
- [57] Guo Z, Chen R, Xing R, Liu S, Yu H, Wang P, Li C, Li P, *Carbohydr Res*, **341**, 351 (2006)
- [58] Peng Y, Han B, Liu W, Xu X, *Carbohydr Res*, **340**, 1846 (2005)
- [59] Wang X, Du Y, Liu H, *Carbohydr Polym.*, **56**, 21 (2004)
- [60] Prusky D, *Annu Rev Phytopathol*, Palo Alto, **34**, 413 (1996)
- [61] Chitarra MIF, Chitarra AB. *Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio*. 2ª edição, editora UFPA, 2005, 785p
- [62] Moss, M.O. Mycotoxins review. 1. *Aspergillus* and *Penicillium*. *Mycologist*, **16**, 116 (2002)
- [63] Liu J, Tian S, Meng X, Xu Y, *Postharvest Biol. Technol.*, **44**, 300 (2007)
- [64] Eckert JW, Ratnayake M, *Phytopathology*, **84**, 746 (1994)
- [65] Tripathi P, Dubey NK, *Postharvest Biol. Technol.*, **32**, 235 (2004)
- [66] Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. *Crop Prot.*, **22**, 39 (2003)
- [67] Tzortzakis NG, Economakis CD. *IFSET*, **8** (2), 253 (2007)

- [68] Spadaro D, Gullino ML, *Int. J Food Microbiol.*, **91**, 185 (2004)
- [69] Zhang D, Quantick PC. *Postharvest Biol. Technol*, **12**, 195 (1997)
- [70] Ismail M, Zhang J, *Outlooks on Pest Management*. **15**, 29 (2004)
- [71] Paranagama PA, Abeysekera KHT, Abeywickrama K, Nugaliyadd L, *Lett. Appl. Microbiol.*, **37**, 86 (2003)
- [72] Fernandez M, Pico Y, Manes J. *Food Addit. Contam.*, **18**, 614 (2001).
- [73] Sorour J, Larink O, *Ecotoxicol Environ Safety*, **50**, 180 (2001).
- [74] Leelasuphakul W, Hemmanee P, Chuenchitt S, *Postharvest Biol. Technol*. **48**, 113 (2008).
- [75] Kast-Hutckeson K, Rider CV, Leblanc GA, *Environ. Toxicol. Chem.*, **20**, 502 (2001)
- [76] Ragsdale NN, Sisler HD, *Annu Rev Phytopathol.*, **32**, 545 (1994)
- [77] Lingk W, *Gesund pflangen*, **43**, 21 (1991)
- [78] Liu ZL, Ho SH, *J Stored Prod Res*, **35**, 317 (1999)
- [79] Cia P, Benato EA, Pascholati SF, Garcia EO, *Bragantia*, **69(3)**, 745 (2010)
- [80] De Assis AS, Stamford TCM, Stamford, TLM, *Rev Iberoam. de Polím.*, **9(5)**, 480 (2008)
- [81] Ghasemnezhad M, Shiri MA, Sanavi M, *Caspian J. Env. Sci.*, **8** (1), 25 (2010)
- [82] Di Piero RM, Garda MV, *Pesq. Agropec. Bras.*, **43** (9), 1121 (2008)
- [83] Laflamme P, Benhamou N, Bussieres G, Dessureault, *Can. J. Bot.*, **77**, 1460 (1999)
- [84] Assis, OBG, Leoni, AM. *Biotechnologia cienc. desenvolv.*, **6** (30), 33, (2003)
- [85] Camili EC, Benato EA, Pascholati SF, Cia P, *Summa Phytopathol.*, **33**, (3), 215 (2007)
- [86] Romanazzi G, Gabler FM, Smilanick JL. *Plant Dis*, **90**, 445 (2006)
- [87] Santos CAA, Castro JV, Picoli AA, Rolim GS. *Rev. Bras. Frutic.*, **30** (1), 88 (2008)
- [88] Li B, Liu B, Su T, Fang Y, Xie G, Wang G, Wang Y, Sun G, *Plant Pathol. J.*, **26** (2), 189 (2010)
- [89] Wu T, Zivanovic S, Ann Draughon F, Conway WS, Sams CE, *J. Agricult. Food Chem.*, **53**, 3888 (2005)
- [90] Palma-Guerrero JP, Janson HP, Salinas J, Lopez-Llorca LV, *J. Appl. Microbiol.*, **104**, 541 (2008)
- [91] Doares SH, Syrovets T, Weiler EW, Ryan CA, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 4095 (1995)
- [92] Pastucha, A, *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, **7(3)**, 41 (2008)
- [93] Paz –Lago D, Borges Jr. A, Gutiérrez A, Borges A, Cabrera G, Ramírez MA, Falcón A, *Cultivos Tropicales*, **21** (4), 17 (2000)
- [94] Otha K, Morishita S, Suda K, Kobayashi N, Hososki T, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **73** (1), 66 (2004)
- [95] Bittelli M, Flury M, Campbell GS, Nichols EJ, *Agricult Forest Meterol*, **107**, 167 (2001)
- [96] Kowalski B, Terry FJ, Herrera L, Peñalver DA, *Potato Res*, **49**, 167 (2006)
- [97] Asghari-Zakaria R, Maleki-Zanjani B, Sedghi, *Plant Soil Environ.*, **55** (6), 252 (2009)
- [98] Costales D, Nápoles MC, Falcón A, *Cultivos Tropicales*, **26** (1), 83 (2005)
- [99] Costales D, Nápoles MC, Falcón A, *Cuban J. Agr. Sci.*, **14**, 167 (2007)
- [100] Ali M, Horiuchi T, Miyagawa S, *Jpn. J. Crop Sci.*, **66** (1), 100-107 (1997)
- [101] Soares AMS, Machado OLT. *Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas*, **1(1)**, 9 (2007)
- [102] Rizzardi MA, Fleck NG, Agostinetto D, Balbinot Jr AA, *Cienc. Rural*, **33(5)**, 965 (2003)
- [103] Lyon GD, Newton AC, *Plant Pathol.*, **46**, 636 (1997)
- [104] Rodrigues AAC “Resistência de caupi a *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*: avaliação de germoplasmas, indução de resistência, caracterização de mecanismos bioquímicos, estruturais e análise da capacidade funcional do xilema”. Tese de doutorado. Recife, Brasil. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2003
- [105] Resende MLV, Salgado SML, Chaves Z. *Fitopatol. Bras.*, **28**, 123, (2003)
- [106] Ryals JA, Neuenschwander UH, Willits MG, Molina A, Steiner H-Y, Hunt MD. *The Plant Cell*, **8**, 1809 (1996)
- [107] Silva RA, Reis VM, Baldani JI, Olivares FL. “Defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos”. *Documentos – Embrapa - Centro Nacional de Pesquisas de Agrobiologia*, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil (2008)
- [108] Pascholati SF, Leite B “Hospedeiro: mecanismo de resistência”. Em: Bergamin Filho A, Kimati H, Amorim L (editores), *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. São Paulo (Brasil): Ed. Agronômica Ceres, vol. 1, 1995, p. 193-217
- [109] Dias GB, Rangel TBA. *RECITEC*, (3), 1 (2007)
- [110] Agrios GN, *Plant Pathol.*, 5ª edição. San Diego (EUA): Elsevier Academic Press, 2005, 922 p.
- [111] Pascholati SF, Leite B, Stangarlin JR, Cia P. *Interação Planta-Patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular*, Vol. 13. Piracicaba (Brasil): Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 2008, p. 627
- [112] Khun OJ. *Indução de resistência em feijoeiro (Phaseolus vulgaris) por acibenzolar-S-metil e Bacillus cereus: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção*, Tese de Doutorado. Piracicaba, Brasil. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007

- [113] Barros FC, Sagata E, Ferreira CC, Juliatti FC. *Biosci. J.*, **26** (2), 231 (2010)
- [114] Orozco-Cardenas M, Ryan, CA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 6553 (1999)
- [115] Bolwell GP, Daudi A. Reactive Oxygen Species in Plant-Pathogen Interactions. En: del Río LA, Puppo A (editores). *Reactive Oxygen Species in Plant Signaling*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009
- [116] Bartosz G, *Acta Physiol. Plant.*, **19**(1), 47 (1997)
- [117] Mazaró SM, *Indução de resistência à doenças em morangueiro pelo uso de elicitores*. Tese de Doutorado. Paraná, Brasil. Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 2007
- [118] Mittler R, *Trends Plant Sci.*, **7**(9), (2002)
- [119] Margis-Pinheiro M, Sandroni M, Lummerzeim M, Oliveira DA. *Ciência Hoje*, **25**, 24 (1999)
- [120] Bautista-Baños S, Hernández-Lauzardo AN, Velázquez-del Valle MG, Hernández-López M, Ait Barka E, Bosquez-Molina E, Wilson CL, *Crop Prot.*, **25**, 108 (2006)
- [121] Franco OL, Melo FR, Silva MCM, Grossi de Sá MF, *Biotecnologia cienc. desenvolv.*, **10**, 36 (1999)
- [122] Ortega-Ortiz H, Benavides-Mendoza A, Mendoza-Villarreal R, Ramirez-Rodríguez H, Romenus KA. *J. Mex. Chem. Soc.*, **51**(3), 141 (2007)
- [123] Fálcon-Rodríguez AB, Cabrera JC, Ortega E, Martínez-Téllez M., *Am. J. Agri. & Biol. Sci.*, **3**(4), 192 (2009)
- [124] Pereira RB, Resende MLV, Ribeiro Júnior PM, Amaral DR, Lucas GC, Cavalcanti FR, *Pesq. agropec. bras.*, **43**(2), 171 (2008)
- [125] Falcón AB, Ramírez MA, Márquez R, Hernández M, *Cultivos Tropicales*, **23**(1), 61 (2002)